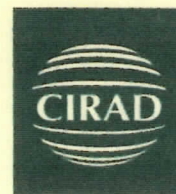




UNIVERSITE DE BORDEAUX 1



Centre de Coopération
International en Recherche
Agronomique pour le
Développement

MEMOIRE DE MASTER II - SCIENCES DU BOIS ET FIBRES

Année 2005 - 2006



Caractérisation génétique des Tecks

(*Tectona grandis* L. f.)

provenant de plantations du Togo

Rapport de stage

Présentée par Zénor A. Logossa

CIRAD-Forêt

Laboratoire des Ressources Génétiques

Campus International de Baillarguet

34398 Montpellier Cedex 5

Maître de stage : Daniel Verhaegen

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier sincèrement la Coopération française (CF) pour la bourse qu'elle m'a octroyée et sans laquelle la réalisation de cette étude ne serait pas possible. Mes reconnaissances particulières pour la sympathie de Mme Conolly de la CF du Togo, de Mlle Hasche de l'Egide de Bordeaux et de Mme Michelle de l'Egide de Montpellier.

Mes remerciements s'adressent aussi à la Fondation Internationale pour la Science (FIS, Suède) pour son appui financier aux travaux de recherche sur la qualité du bois de teck des plantations du Togo.

Mes sincères reconnaissances au Directeur des Bourses et Stages (Togo) M. Lamboni, et au Directeur de l'Institut Togolais de Recherche Agronomique (ITRA), M. Agbobli Atsu pour leur soutien.

J'adresse un grand merci à M. Bernard De Jeso, mon responsable de formation, pour m'avoir accepté dans sa formation.

Je remercie très vivement le Docteur Kokutse Adjo Djifa et Kokou komi , enseignants chercheurs à l'Université de Lomé, pour tout leur soutien tout au long du déroulement de cette étude. Leurs aides matérielles et morales ont été incontournables à la réussite de ce travail.

Sous le soleil et sous la pluie et à toutes les fois, sur le terrain, Monsieur Akpéné et Adjonou Kossi étaient présents pour m'aider. Merci infiniment à eux.

Je remercie également M. Daniel Verhaegen, mon maître de stage pour m'avoir permis de réaliser mon stage au sein du Laboratoire de Génétique du CIRAD-Forêt et m'avoir conseillé tout au long du stage.

Un grand merci à Jean-Marc Bouvet, responsable de l'unité UPR 39(Diversité génétique et Amélioration) pour m'avoir accueilli dans son unité et encouragé de temps en temps.

Je remercie toute l'équipe du laboratoire, plus particulièrement Alexandre Vaillant qui m'a dirigé sur le plan technique. Je n'oublie pas les aides précieuses de Ronan Rivallan lors des manipulations au CIRAD de Lavalette. Je remercie également Sophie pour ces encouragements. Roselyne et Bénédicte ne sont pas oubliées.

Toute ma sympathie à tous les stagiaires : Aïcha, Franck, Philipe et surtout à François pour toutes ses aides.

Le soutien moral et matériel de mes amis de Bordeaux (Isabelle, Marie France, Marie, Solange, Maryse, et Alexandre), de Montpellier (Marie Dominique, Jean Luc, Modestine et Marie Christine), et ceux du Togo (Daniel, Florence, Augustine, et Elyse), ont beaucoup contribué à la réalisation de ce travail. Je leur dis un grand merci.

Toutes mes reconnaissances à ma famille pour son soutien dans tous mes moments difficiles vécus pendant l'élaboration du travail. Un gros coucou à Elzam et à Djaesso.

SOMMAIRE

I- INTRODUCTION	1
II- SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	2
1. Le teck : botanique et écologie	2
2. Taxonomie	3
3. Aires de répartition	3
3.1 Aire de distribution naturelle	3
3.2 Plantations de teck : historique et distribution	4
4. Le bois de teck et ses caractéristiques	5
4.1 Aspect	5
4.2 Structure anatomique	5
4.3 Caractéristiques chimiques	5
4.4 Caractéristiques physiques et mécaniques	6
4.5 Durabilité et préservation	6
5. Les diverses utilisations du teck	7
6. Variabilité génétique	7
7. Les marqueurs moléculaires	8
8. Les marqueurs microsatellites	8
9. Connaissance du génome du teck	9
III- CONTEXTE DE L'ETUDE	10
1. Les objectifs de l'étude	11
1.1 Objectif global	11
1.2 Objectif spécifique	11
IV- MATERIEL ET METHODES	12
1. Echantillonnage	12
2. Extraction de l'ADN	12
2.1 Extraction de l'ADN des feuilles	12
2.2 Déprotéinisation	13
2.3 Précipitation de l'ADN	13
2.4 Purification de l'ADN	13
3. Dosage de l'ADN	14
4. Contrôle de la qualité de l'ADN	14
5. Amplification PCR des locus microsatellites	15
5.2 PCR des ADN-témoins	16
7. Analyses moléculaires des données	17
7.1 Estimation du taux d'erreur de génotypage	17
7.2 Tests des erreurs liées aux erreurs de réplication du motif microsatellite, de détermination des allèles nuls et des allèles qui amplifient moins.	18
7.3 Calcul des paramètres de diversité	18
7.4 Détermination des effets liés à la structure génétique des populations	18
7.5 Construction de dendrogramme	19
7.6 Détermination de l'origine probable du teck en plantation au Togo	19
V- RESULTATS	19
1. Estimation d'erreur de génotypage	19
2. Tests des erreurs liées aux erreurs de réplication du motif microsatellite, de détermination des allèles nuls et des allèles qui amplifient moins	19
3. Diversité génétique	19

Tableau 8 : Quelques paramètres de diversité génétique.....	20
4. Analyse des effets de la structuration génétique des populations.....	21
4.1 Analyse AMOVA	21
4.2 Analyse Factorielle des Correspondances et dendrogramme	21
5. Origine naturelle probable du teck en plantation au Togo.....	22
VI- DISCUSSION.....	22
1. Erreur de génotypage	22
2. Les allèles nuls et allèles amplifiant moins	23
3. Diversité génétique des tecks en plantation au Togo.....	23
4. Variabilité génétique et variabilité technologique des tecks des plantations du Togo	24
VII- PERSPECTIVES	25
VIII- CONCLUSION.....	26
REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE	26

I- INTRODUCTION

L'ampleur actuelle de la déforestation sous les tropiques et la dégradation des forêts dans plusieurs régions du monde compromettent la disponibilité des produits forestiers. La reconstitution de ces forêts passe par la conservation des écosystèmes les plus fragiles et la valorisation des espèces forestières en plantations. Les principales espèces rencontrées dans les plantations sont les Eucalyptus (*Eucalyptus* spp.), les pins (*Pinus* spp.), les Acacia (*Acacia* spp.), et le teck (*Tectona grandis*). Parmi ces essences, le teck est sans conteste l'espèce ligneuse tropicale dont le bois est le plus apprécié et le plus utilisé au niveau mondial en raison de ses propriétés technologiques exceptionnelles (Kokutse, 2002).

Le teck est originaire d'Asie du sud ; il a été introduit dans plusieurs pays d'Afrique et d'Amérique latine au début du 20^{ème} siècle. Il s'est particulièrement bien adapté aux régions de la zone intertropicale à des conditions édaphiques et climatiques extrêmement contrastées. La superficie des plantations de teck dans le monde augmente. Il prend une place importante dans le secteur forestier des pays producteurs, qui souhaitent améliorer le rendement financier des plantations (Pandey et Brown, 2000). La gestion des plantations de teck, l'amélioration des stratégies de conservation, la commercialisation du teck et l'amélioration de la qualité du bois sont autant de sujets qui préoccupent les pays producteurs et les organismes internationaux de gestion forestière.

Au Togo, le teck a été introduit pendant la période coloniale allemande (1905). Aujourd'hui la superficie des plantations de teck au Togo est estimée à plus de 11300 ha (FAO, 2001) et chaque année environ 750 ha sont plantées. Le teck est très apprécié par les populations locales, et constitue aujourd'hui, la première essence de bois exporté (Kokutse, 2002). Pour tirer profit du commerce du bois de teck au Togo, la concurrence du marché exige une garantie de qualité du bois. Notre étude vise à étudier différentes origines du teck connues pour leurs propriétés technologiques. Elle consiste à caractériser six populations de teck du Togo sur des bases moléculaires afin de déterminer leur diversité génétique au regard de la variabilité connue du bois. Des marqueurs moléculaires neutres (microsatellites) seront analysés à cette fin. Les origines naturelles possibles de ces plantations jusqu'ici mal connues pourront être déterminées. Enfin, des perspectives de recherche et de développement se dégageront de nos résultats. La bibliographie sur l'espèce ainsi que les outils d'analyse moléculaire seront indispensables pour l'étude.

II- SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Le teck : botanique et écologie

Le teck est un grand arbre tropical dont la cime, au stade adulte est arrondie (Tajuddin *et al.*1996). Son houppier est peu développé latéralement lorsqu'il est jeune, mais il est arrondi et peut culminer à 46 m à l'âge adulte. Les branches dressées et tortueuses ont une section quadrangulaire lorsqu'elles sont jeunes ; la bille de pied atteint fréquemment plus de 12 m. Son tronc peut atteindre dans de bonnes conditions, plus de 2 m de diamètre. Le fût en formation naturelle présente souvent des cannelures, des fourches et des contreforts. L'écorce fibreuse est d'abord lisse et grise, puis brun-grisâtre avec des rhytidomes, se détachant verticalement en de longues bandes étroites (Demenois et Heurtaux, 2001). Les racines du teck sont profondes et puissantes.

Le feuillage est dense et caduc avec de grandes feuilles oblongues simples, entières et opposées, parfois verticillées, qui mesurent en général, 30 à 60 cm de longueur et 15 à 40 cm de largeur, avec toutefois une forte variabilité selon les provenances (Behagel, 1997). Les feuilles sont coriaces, glabrescentes sur la face supérieure, verruqueuses et pubescentes sur la face inférieure. Le pétiole peut atteindre 6cm de longueur (Tajuddin, 1996).

Dans l'aire naturelle, le teck fleurit chaque année à partir de l'âge de 20 ans environ. Ses milliers de petites fleurs blanches et odorantes sont groupées en cymes. Elles sont hermaphrodites et plus ou moins zygomorphes. En Afrique de l'Ouest, les arbres sont beaucoup plus précoces, certains fleurissent dès la deuxième année de plantation.

Le fruit est une drupe ronde produite en abondance. Ce fruit de 1 à 1,7 cm de diamètre est souvent entouré d'une enveloppe membraneuse, (reste du calice élargi) et renferme un noyau dur de 1cm de diamètre entouré d'un épicarpe épais et spongieux et d'un endocarpe très dur. Le noyau tétracarpellaire ne contient le plus souvent qu'une, deux ou trois graines (Soeprijo Kertadikara, 1992). En moyenne 20% seulement des loges contiennent un embryon (Behagel, 1997). Le taux de germination est en effet généralement assez faible : 35% (Soeprijo Kertadikara, 1992). Les graines peuvent rester en dormance pendant de nombreuses années avant de germer. Le teck pousse sous des régimes climatiques pluvieux à saisons sèche fortement marquée. On le retrouve dans des zones où les précipitations annuelles sont comprises entre 600 et 5000 mm, mais l'espèce se développe particulièrement bien dans les endroits où elles sont comprises entre 1250 et 3750 mm avec un optimum à 2500 mm (Demenois et Heurtaux, 2001). Il supporte une température minimale de 4,5°C et une

température maximale de 48°C (Tajuddin *et al.* 1996). Le teck exige beaucoup de lumière et pousse bien sur des alluvions profondes, aérées et bien drainées, qu'il soit dans son biotope naturel ou en plantation. Le facteur précipitation, et sol, détermine en effet la distribution et la croissance du teck dans son aire naturelle ; en plantation, il apparaît ainsi particulièrement sensible à la fertilité du sol (Demenois et Heurtaux, 2001).

2. Taxonomie

Selon la classification classique, le teck appartient aux groupes systématiques suivants :

Règne : *Plantae*
Division : *Magnoliophyta*
Classe : *Magnoliopsida*
Ordre : *Lamiales*
Famille : *Verbenaceae*
Genre : *Tectona*

La classification phylogénétique à la différence de la classique, place le teck dans la famille des Lamiaceae et dans la sous famille des Chloanthoidea.

Le nom du genre (*Tectona*) vient du portugais Teca, lui-même dérivant du mot grec tekton, qui signifie "charpentier". Il est représenté par trois espèces : *T. grandis* L.f., *T. hamiltoniana*. Wall. et *T. philipinensis* Benth. Une quatrième espèce *T. abludens* a été décrite par Santi et Rudjiman mais elle n'est pas reconnue par la majorité des auteurs. *Tectona grandis* L. f. est la seule parmi ces espèces à avoir une grande importance économique (Demenois et Hertaux, 2001).

3. Aires de répartition

3.1 Aire de distribution naturelle

Le teck (*Tectona grandis*) pousse naturellement sous climat tropical et subtropical entre les 10^{ème} et 25^{ème} degré de latitude en Inde, au Myanmar, au Laos et en Thaïlande (Behagel, 1999). Il a été naturalisé à Java (Indonésie) où il a été probablement introduit il y a 400 à 600 ans (Pandey et Brown, 2000).

Tectona hamiltoniana est endémique de la zone sèche de Myanmar.

Tectona philippinensis est quant à lui endémique de l'île Iling aux Philippines, (Demenois et Heurtaux, 2001)

3.2 Plantations de teck : historique et distribution

Les premières plantations en Indonésie semblent être établies à partir du XIV^e siècle. Elles y ont été créées à partir des graines introduites par des religieux bouddhistes venant d'Inde. Par la suite, les conditions particulières favorables à l'essence auraient facilité sa régénération naturelle sur l'île et sur les îles avoisinantes ayant pendant longtemps conduit les scientifiques à l'interpréter comme de l'endémisme (Demenois et Heurtaux, 2001). Indépendamment de son introduction en Indonésie (Java), le teck a été introduit pour la première fois avec succès au Sri Lanka en 1680 (Pandey et Brown, 2000). Dès la fin du XVIII^e siècle, vu le grand succès commercial du teck, les pays d'origine ont cherché à renouveler cette ressource en multipliant les peuplements. Les premiers furent alors plantés en Birmanie en 1825, en Inde (Conolly's Plot au Kéréla) en 1846, en Indonésie en 1895 et plus tard en 1942 au Laos (Demenois et Heurtaux, 2001).

Au début du XX^e siècle, les graines d'Inde et de Birmanie ont traversé les océans pour des plantations en Afrique et en Amérique tropicale. Le teck a été en effet introduit pour la première fois en dehors de l'Asie au Nigéria en 1902 (Horne, 1966), avec des graines provenant d'abord de l'Inde, puis du Myanmar. La plantation d'arbres a commencé à la période coloniale dans l'Est de l'actuel Ghana (anciennement Togo), vers 1905 (Kadambi, 1972). Au Bénin, le teck est introduit en 1916 par des missions catholiques (Demenois et Heurtaux, 2001). Le teck est ensuite introduit en Côte d'Ivoire en 1927 avec des graines de provenances togolaises (Belouard, 1957). Les premières semences togolaises seraient venues du Nigéria (Souvannavong, 1986). L'histoire des plantations de teck en Afrique reste cependant mal connue pour la plupart des plantations (Kokutse, 2002).

En Amérique tropicale, l'essence est introduite pour la première fois à la Trinité-et-Tobago en 1913 (Keogh, 1979) avec des graines du Myanmar. Les plantations ont commencé entre 1927 et 1929 au Honduras, Panama et au Costa Rica (Pandey et Brown, 2000).

Dans la zone intertropicale, les surfaces plantées en teck n'ont pas cessé d'augmenter. Aujourd'hui, 3 millions d'hectares de teck sont plantés dans le monde. Les plantations de teck occupaient à elles seules environ 26% des essences forestières plantées en zone tropicale et subtropicale (Chaix, 2002). Les plantations de teck deviennent ainsi les premières plantations forestières capables de produire du bois d'œuvre à forte valeur ajoutée, pendant plusieurs révolutions, et pour une seule génération de propriétaire (Vernay, 2000).

4. Le bois de teck et ses caractéristiques

4.1 Aspect

Les grumes de bonne rectitude, sont parfois noueuses. Celles issues des plantations contiennent des bosses (qui peuvent être très nombreuses), des cannelures et des fourches. L'aubier large de 2 à 6 cm est nettement différencié et présente parfois des galeries d'insectes (CTFT,1990) ; une majeure partie de l'aubier disparaît sur les billes qui ont été annelées sur pied avant l'abattage, ou qui ont été stockées dans l'eau. Les cernes sont généralement visibles et les fibres droites (Soeprijo Kertadikara, 1992). Les fentes sont assez rares, mais on peut observer de temps en temps des fractures transversales (CTFT, 1990).

Le bois débité parfait est de couleur beige-brun un peu verdâtre, fonçant légèrement à la lumière pour prendre une couleur plus profonde avec des reflets cuivrés. La teinte peut-être uniforme ou striée irrégulièrement de veines brun-noir. L'aubier blanc-jaunâtre est mince sauf chez les jeunes sujets vigoureux (Demenois et Heurtaux, 2001). Le bois de teck fraîchement débité a une odeur caractéristique forte de "vieux cuir" qui, selon certains, serait due à la présence d'une oléorésine, lui conférant également un toucher remarquable onctueux et gras (CTFT,1990).

4.2 Structure anatomique

Les pores forment une zone initiale semi-poreuse très nette, obstrué par des thylles à parois minces et des dépôts de gommés. Les rayons ligneux larges de 3 à 5 cellules, forment une structure homogène et sont au nombre de 5 ou 6 par millimètre (CTFT,1990).

4.3 Caractéristiques chimiques

La teneur et la composition des substances extractibles contenues dans le duramen du teck confèrent à son bois, une durabilité naturelle et une stabilité dimensionnelle particulièrement recherchées. Plus d'une quarantaine de ces composés ont été identifiés chez l'essence. Ce sont essentiellement les quinones (naphthoquinone et anthraquinones), les terpénoïdes et d'autres dérivés du déhydronaphtol (tectol et déhydrotectol) dont la composition chimique aurait largement été étudiés (Kokutse, 2002). Selon ces études (Sander mann et Simatupang 1966 ; Pahup *et al.* 1989 ; Yamamoto et al. 1998 ; Simatupang et Yamamoto 1998 ; Haluk *et al.* 2001), les anthraquinones (spécialement le tectoquinone), le lapachol et le désoxylapachol interviennent dans la durabilité vis à vis des termites. Le tectol et le déhydrotectol semblent jouer un rôle dans les processus de retrait. Et, bien que les

substances intervenant dans la toxicité vis à vis des champignons ne sont pas encore bien connues (Kokutse, 2002), il a été montré que l'effet synergique entre les extraits à l'éthanol et le latex contenu dans les cellules du bois de cœur expliquerait la résistance du teck aux champignons (Yamamoto *et al.* 1998). Le bois de teck contient également une oléorésine naturelle qui le rend extrêmement résistant aux agressions climatiques les plus rudes et d'une remarquable durée dans le temps. Grâce à l'oléorésine, le teck ne provoque pas de corrosion ni d'oxydation du métal à son contact. Le teck se révèle en outre, plus siliceux que la moyenne des feuillus tropicaux, (Demenois et Heurtaux, 2001).

Cependant, le bois de teck contiendrait des composés chimiques qui ne rendent pas toujours agréable son utilisation. Il est désaffûtant pour les lames de scies et renferme un inhibiteur des produits de finition à base d'huile de lin ; en conséquence, son traitement nécessitera d'en tenir compte et d'utiliser des produits appropriés comme les huiles exotiques, qui lui conserveront un aspect chaud. (Demenois et Heurtaux, 2001).

4.4 Caractéristiques physiques et mécaniques

Classé parmi les bois légers à mi-légers, le bois de teck a une densité comprise entre 0,60 et 0,75 à 12% d'humidité, et variable selon les provenances. Le teck provenant d'Afrique serait plus dense que celui d'Asie. On estime entre 600 et 1200 kg/m³, la masse volumique des grumes à l'état vert (CTFT, 1990).

Par ailleurs, le bois du teck sèche bien grâce à son faible retrait volumétrique (8,1%), et ses dimensions restent stables après séchage. Sa cohésion transversale (résistance à une traction orthogonale à l'axe des fibres) est faible mais sa cohésion axiale est bonne. Sa résistance à la compression est moyenne à bonne. Le bois de teck présente une légère tendance au fendage lors du clouage, il est donc recommandé de percer des avant-trous (Demenois et Heurtaux, 2001).

4.5 Durabilité et préservation

Le bois de cœur de teck est réputé depuis longtemps pour sa résistance naturelle élevée vis à vis des champignons de pourritures et des termites. L'aubier est moins durable, mais peut être plus facilement traité que le duramen. L'utilisation du teck de plantation dans des conditions sévères en extérieur notamment, ne peut s'envisager sans traitement de préservation. Le teck des forêts naturelles n'exige pas de traitement, (CTFT, 1990).

5. Les diverses utilisations du teck

Vu ses caractéristiques très exceptionnelles, le bois est indiscutablement l'une des essences commerciales qui se prête à de multiples usages. C'est un "bois noble" présentant le meilleur comportement en service. Il est recherché en construction navale, et est utilisé dans la fabrication des ponts de bateaux de commerce et de plaisance. Il est aussi très employé en menuiserie de luxe, intérieure et d'extérieure. Le teck est également utilisé dans la fabrication des parquets, en ébénisterie et en décoration (Kokutse, 2002).

Des emplois moins connus du bois de teck sont à relever. Il s'agit notamment du façonnement des instruments de petites dimensions (règle graduée, boîte d'appareil de précision), du matériel de laiterie, et des cuves à produits chimiques (Demenois et Heurtaux, 2001). Le bois s'utilise dans la pharmacopée traditionnelle pour traiter le diabète, les vers intestinaux, les dermites, les aphtes, gingivites, dyspepsies, pyrosis.

Enfin, les produits non ligneux du teck sont utilisés, mais à échelle réduite. Les tannins des feuilles peuvent être utilisés en teinturerie, l'huile des graines et des fleurs, de même que les fruits et l'extrait d'écorce, à des fins pharmaceutiques (Maldonado, 1999). L'huile des graines favorise la croissance capillaire et lutte contre l'eczéma et la teigne. Les fruits et les fleurs constituent de véritables diurétiques. L'écorce lutte contre la lèpre, les dermites, la bronchite, l'hyperacidité, la dysenterie, et autres. Les feuilles s'avèrent efficaces contre le diabète. Les racines pour leur part sont intéressantes dans la lutte contre l'anurie. Les feuilles s'utilisent d'autre part comme emballage de viandes et de poissons (Maldonado, 1999).

6. Variabilité génétique

Le teck de plantation et celui issu des forêts naturelles ont des qualités différentes selon les utilisateurs. Le premier est souvent jugé de qualité inférieure. Le teck des forêts naturelles est en effet très recherché sur le marché car il fournit des billes de fort diamètre permettant de meilleur rendement lors de la transformation et serait plus résistant, plus dense et de couleur plus attirante. Mais, du fait de la disparition des aires naturelles du teck, le bois commercialisé provient essentiellement des plantations selon des rotations de plus en plus courtes. Contrairement à l'opinion générale, des recherches ont montré que le teck a l'avantage de produire du bois de très grande résistance dans des conditions de rotation relativement courte de 21 ans, dans des plantations favorables à sa croissance (Vernay, 2000). Toutefois, une grande variabilité de la qualité du bois s'observe suivant les provenances et au sein même d'une provenance (teck d'Afrique plus dense que celui d'Asie...). Le phénotype étant le résultat de l'action combinée des effets du milieu et des effets génétiques, l'estimation

Marqueurs	Nombre	Codominance	Polymorphisme	Stade, organe	Technicité
Morphologique	Limité	rare	faible	oui	faible
Isosymes	30	oui	faible	oui	faible
Protéine	100	oui	faible	oui	moyenne
RFLP	Illimité	oui	élevé	non	élevé
Microsatellites	quelques milliers	oui	très élevé	non	élevé
AFLP	illimité	oui	très élevé	non	moyenne
STS	quelques milliers	oui	moyen	non	élevé

Tableau 1 : Caractéristiques des principaux marqueurs moléculaires

Source : Hérault, 2004

Technicité : niveau de difficultés (techniques et financières) pour le développement des locus marqueurs.

Stade, organe : marqueurs liés au stade de développement ou à l'organe étudié

de ces derniers se fait de plus en plus à travers les essais de provenances. Les outils d'estimation de ces effets génétiques sont aujourd'hui multiples et en pleine évolution avec la biologie moléculaire.

7. Les marqueurs moléculaires

Le développement de la biologie moléculaire et l'étude fine des génomes a permis le développement de nouveaux marqueurs plus adaptés aux études génétiques. Les anciens marqueurs (morphologiques et biochimiques) présentent les défauts de n'être pas toujours nombreux et polymorphes et sont donc de moins en moins utilisés au profit des marqueurs moléculaires dans les études de diversité génétique.

Un marqueur moléculaire est un segment de la molécule d'ADN (Acide Désoxyribonucléase) qui peut présenter diverses formes ou allèles (polymorphisme) dans la population. Le nombre et la fréquence des allèles sont variable selon le marqueur considéré et la population concernée. Il en existe différents types et se subdivisent en deux classes :

- Les marqueurs dominants : ce sont les RAPD (Random Amplification of Polymorphic DNA) et les AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism).
- Les marqueurs co-dominants : on regroupe dans cette classe les microsatellites (nucléaires et chloroplastiques) ou SSR (Simple Sequence Repeat) et les RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) et les STS

Les caractéristiques de tous ces marqueurs sont présentées dans le tableau 1.

8. Les marqueurs microsatellites

De nombreuses études s'orientent vers les marqueurs SSR pour caractériser des populations tant végétales (Cocotier : Teutal *et al.* 2000 ; Sorgho : Grenier *et al.* 2000 ; Pêcher : Aranzana *et al.* 2003 ; Riz : Zhou *et al.* 2003 ; et autres) qu'animales (Abeilles : Garnery *et al.* 1998, etc), cité par Sire (2003). En effet, selon des études récentes, les SSR constituent un outil de choix pour analyser la diversité génétique ; des tests comparatifs chez l'olivier ont montré qu'ils sont plus performants que les marqueurs dominants (RAPD et les AFLP).

Les marqueurs microsatellites sont des séquences génomiques constitués de répétitions en tandems de 1 à 6 motifs nucléotidiques. Ils sont extrêmement polymorphes. Il s'agit d'un polymorphisme au niveau du nombre de répétitions (Tagu et Cussenot, 1997). On pense que le polymorphisme des microsatellites serait dû à un fort taux de mutation qui, lui-même

proviendrait soit d'un phénomène de « dérapage » de l'ADN polymérase, soit d'un crossing-over inégal lors de la méiose.

L'hypothèse du « dérapage » permettrait de comprendre les faibles différences de tailles et s'explique par le fait que l'ADN polymérase arrivant au niveau du motif nucléotidique répété, est perturbé par celui-ci. Cette perturbation se traduirait par le retrait ou l'ajout de un ou plusieurs motifs lors de la réplication.

L'hypothèse du crossing-over quant à elle, explique les différences élevées des tailles d'allèles. Au cours de la méiose, le site de fixation peut être décalé s'il se situe dans une séquence microsatellite lors de la reconnaissance des deux chromosomes homologues. Les deux chromosomes s'échangent alors deux parties de chromatine de taille inégale au niveau du nombre de répétition du motif dans le microsatellite.

Les microsatellites sont des marqueurs moléculaires qui réunissent en effet plusieurs avantages, même si leurs fonctions exactes dans le génome restent à déterminer (Sire, 2000) et s'ils présentent l'inconvénient de reposer sur une technique qui exige le développement coûteux des paires d'amorces (Fraisie, 2003). Leur niveau de polymorphisme permet la détection de différences entre des individus même génétiquement proches. Leur taux de mutation étant supérieur à la plupart des autres marqueurs moléculaires, ils permettent de caractériser l'évolution de la diversité génétique sur de courte période de temps, quelques décennies (Hérault, 2005).

9. Connaissance du génome du teck

Le teck est une espèce diploïde qui possède 18 chromosomes ($2n = 36$). Plusieurs marqueurs moléculaires ont été étudiés chez l'espèce (AFLP : Madan et al. 2004, et autres), mais les marqueurs microsatellites n'ont été développés que tout récemment (au nombre de 15) par Verhaegen *et al.* en 2005.

III- CONTEXTE DE L'ETUDE

Le Togo n'est pas un pays forestier. Les forêts naturelles, généralement dispersées en lambeaux, sont estimées à 510 115 ha. Malheureusement, ce domaine forestier si réduit subit une forte dégradation ; le taux de déforestation annuel moyen est d'environ 2,6% pour les "forêts de montagne", de 3,13% pour les recrûs forestiers et de 3,7% pour les autres formations fermées (FAO 2001). Les causes de cette dégradation sont l'intensification des cultures de rente de café-cacao, de coton et de palmier à huile. A cela s'ajoutent les exploitations anarchiques des principales essences de bois d'œuvre et l'inexistence d'une réglementation adéquate.

Des plantations et reboisements avaient été entrepris à grande échelle dans les années 1910, sous la colonisation allemande. Cette époque (1904-1919) est caractérisée par la multiplicité des espèces telles que *Erythroleum* sp. *Khaya* spp. et *Tectona grandis*. Par la suite le teck a fini par s'imposer grâce à la réussite de ces plantations.

La période de 1920 à 1950 est marquée par un grand nombre de reboisements en teck sur de petites superficies. Le teck est alors l'essence de plantation de bois d'oeuvre presque exclusive, quoique des efforts de diversification aient été entrepris par l'Office de Développement et d'Exploitation des Forêts (ODEF), créé en 1971. L'ensemble des plantations est estimé à 11.300 ha (FAO, 2001). Ce sont des teckeraies étatiques, contractuelles et privées. Il existe aussi des plantations et des régénérations naturelles sur des bandes étroites de terre en bordure des routes dont la protection et l'aménagement sont rendus impossibles à cause des interventions délictueuses. Actuellement avec de nouveaux projets financés à l'échelle nationale (PRAF-00/MEPF-CTTC, qui a pour mission de valoriser les anciennes teckeraies et de planter environ 4000 ha dans les années à venir) ou avec l'aide de bailleurs de fonds (OIBT notamment), la surface des plantations de teck s'accroît. Et les semences servant à l'installation de nouvelles plantations proviennent de différentes régions géographiques, certainement reconnues comme de meilleures provenances.

Parallèlement au développement des plantations de teck au Togo, le bois de teck devient de plus en plus apprécié et le plus utilisé au niveau national, en raison de ses propriétés technologiques exceptionnelles (Kokutse, 2002). Son bois a fini par convaincre les Togolais un siècle après son introduction. Il est désormais très apprécié, comme partout ailleurs, et est très sollicité pour les ameublements de luxe. Le teck est devenu de ce fait, la première essence de bois d'œuvre au Togo et la principale essence exportée. Cependant, une grande variabilité s'observe au sein des provenances de teck en plantation au Togo (Kokutse

2002). Mais, après un siècle de culture de teck au Togo, peu de données sont disponibles pour connaître et comprendre le déterminisme de cette variabilité, faute de recherches d'accompagnement des projets de plantations de tecks. Les récents travaux réalisés sur le bois de teck en plantation dans les cinq zones écologiques du Togo montrent que les caractéristiques technologiques (pourcentage de bois de cœur, densité du bois à 12% et durabilité naturelle) et esthétiques (couleur du bois), présentent une grande variabilité au niveau des arbres et des parcelles (Kokutse 2002, Kokutse *et al.* 2004, Kokutse *et al.* 2005). En outre, l'observation des arbres dans les parcelles permet de constater une variabilité de caractères morphologiques (fourches, cannelures, nœuds, cylindricité etc..), dont l'impact est très important sur la valeur commerciale des produits de teck. Cette variabilité serait liée à certains facteurs de croissance notamment le climat, la nature des sols, la sylviculture mais aussi à la provenance génétique. La connaissance de ces facteurs de variabilité des propriétés du bois de teck et celle des provenances génétiques surtout, est indispensable si l'Office de Développement et d'Exploitation des Forêts (ODEF) qui gère les teckeraies du Togo veut sélectionner, contrôler et employer au mieux la ressource en fonction des conditions d'emploi recherchées sur les marchés locaux et internationaux. Pour rendre plus compétitif le teck togolais sur le marché international, il est important de maîtriser la diversité génétique des populations et peuplements de teck en plantation au Togo depuis près d'un siècle et envisager une amélioration génétique et la création variétale du teck au Togo.

1. Les objectifs de l'étude

1.1 Objectif global

Contribuer à l'amélioration de la qualité du bois de teck en plantation au Togo par le biais de la maîtrise de la diversité génétique en liaison avec la variabilité des propriétés technologiques et la création des meilleurs clones.

1.2 Objectif spécifique

L'objectif spécifique est d'identifier sans erreur les provenances de tecks en plantation au Togo à l'aide des marqueurs microsatellites (SSR) nucléaires afin de les intégrer dans un processus de gestion de la ressource génétique et plus tard dans un programme d'amélioration génétique. La connaissance de la variabilité génétique des provenances togolaises aidera aussi à comprendre les différences significatives mises en évidence entre les parcelles de teck de différentes zones écologiques du Togo lors des précédents travaux sur la qualité technologique du teck.

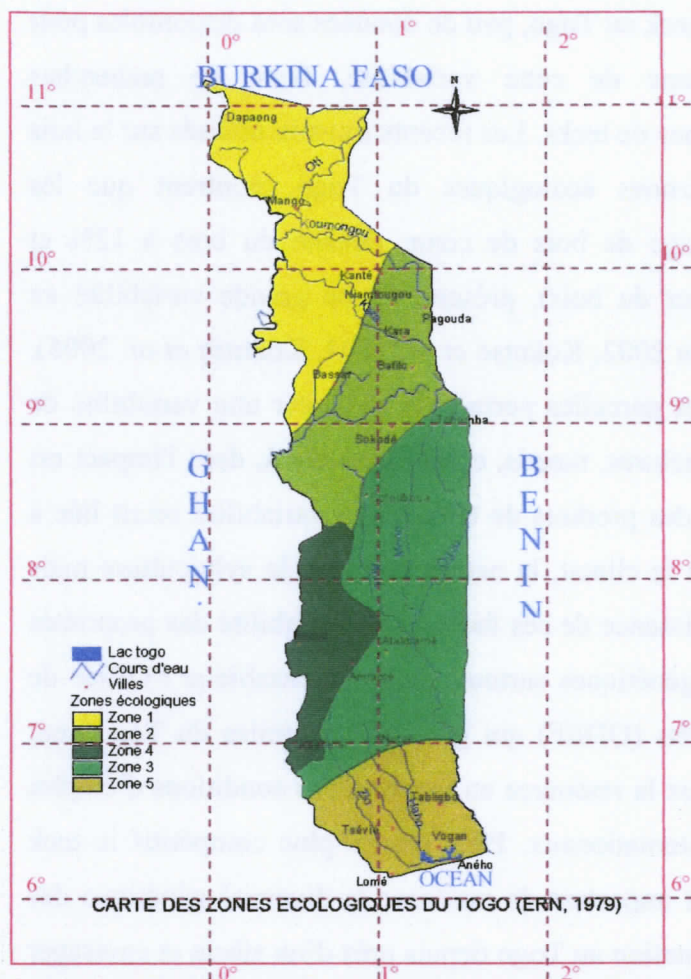


Figure 1 : Subdivisions écologiques du Togo (Ern 1979)

Légende

Zone 1 : zone des plaines du nord, climat tropical avec une saison des pluies de juin à octobre et une saison sèche de novembre à mai (soient six à sept mois écologiquement secs), correspondant essentiellement aux savanes soudaniennes ;

Zone 2 : zone des montagnes du nord, climat de type soudano-guinéen d'altitude avec des nuits assez fraîches, une saison pluvieuse (avril-octobre) et une saison sèche (octobre-mars) marquée par l'harmattan,

domaine de mosaïque de forêts denses sèches et de savanes ;

Zone 3 : zone des plaines du centre, climat tropical marqué par une saison des pluies et une saison sèche

de 4 mois au moins, domaine des savanes boisées guinéennes ;

Zone 4 : zone méridionale des Monts du Togo, climat subéquatorial de transition caractérisé par une grande saison pluvieuse (mars-octobre) interrompue par une légère diminution en août ou septembre, domaine des forêts denses semi-caducifoliées ;

Zone 5 : plaine côtière du sud Togo, climat subéquatorial marqué par un déficit pluviométrique (800 mm/an à Lomé).

IV- MATERIEL ET METHODES

L'échantillonnage est fait dans les 5 zones écologiques du Togo (Figure 1).

Le choix des sites échantillonnés a été effectué en se basant sur les informations technologiques et écologiques dont nous disposons sur les peuplements de teck déjà étudiés par KoKutse en 2002. Nous avons regroupé par similarité les peuplements dans chaque zone. Les populations sélectionnées en nombre significatif pour l'étude, ont ainsi des caractéristiques bien différentes l'une de l'autre. Les tecks de la zone III sont plus colorés et moins durables. Ceux de la zone I sont les plus durables et ceux de la zone V, le sont moyennement. La densité du bois, le pourcentage du bois de cœur, ainsi que le diamètre du tronc diffèrent également d'une zone à l'autre, (Tableau 2 et 3)

1. Echantillonnage

Les sites sélectionnés, déjà visités dans le cadre des travaux antérieurs (Kokutse 2002), sont à nouveau prospectés et échantillonnés. Des échantillons de feuilles juvéniles vertes, y sont prélevés sur des arbres au niveau de l'apex des rameaux. Une trentaine d'arbres sont échantillonnés par site. Les feuilles ainsi prélevées sont mises dans des sachets plastiques contenant 25 à 30 g de silicagel, afin de favoriser leur dessèchement et leur conservation dans de bonnes conditions avant d'être transféré au laboratoire de l'UPR 39 du CIRAD-Forêt, où elles ont été séchées à l'étuve à 35°C. Seulement 177 individus issus de 6 provenances présentaient un état sanitaire satisfaisant pour procéder à l'extraction d'ADN. Les caractéristiques de ces provenances sont résumées dans les (tableau 2 et 3). Sur chaque individu, 200 mg sont pesés et broyés finement dans un mortier en présence d'azote liquide (solution qui facilite le broyage et réduit l'activité des nucléases). La poudre obtenue est versée dans des tubes de 13 ml et conservée à -80°C pendant une à deux semaines avant l'extraction de l'ADN.

2. Extraction de l'ADN

L'extraction de l'ADN, a été faite suivant la méthode de Shaghaï et Maroof (1984) avec quelques modifications. Cette manipulation peut-être subdivisée en 4 phases.

2.1 Extraction de l'ADN des feuilles

Dans les tubes contenant la poudre de feuilles, on ajoute une pointe de spatule de PVP 1% (polyvidone 25) et 5ml de tampon ATMA B chaud (Composition en annexe1). Les tubes

Zones écologiques	peuplement	Longitude Latitude	Age (année)	Densité (pieds/ha)	Diamètre moyen à 1,3m (cm)	Hauteur moyenne (m)	Type de sol
Zone 1	LoKo	0°43'159'' 9°42'615''	13	1.700	12,9 ±2,1	7,4±2,7	Ferrugineux Texture sableuse
	Natitikpi	0°13'782'' 10°36'851''	70	1.300	32,3±5,3	21,1±1,9	Ferrugineux Limoneux- gravillonnaire
Zone 3	Avétonou	0°48'017'' 6°45'388''	24	2.700	16,8±6,1	13,6±4,8	Ferrugineux Hydromorphe sableux
	Avétonou	0°47'976'' 6°48'205''	46	2.100	21,2±5,1	18,4±3,2	Ferrugineux sableux
Zone 5	Etô	1°06'640'' 6°32'236''	11	1.700	19,1±4,4	17,9±2,0	Ferrugineux Sablo-argileuse
	Lilicopé	1°10'238'' 6°34'506''	29	1.200	24,9±4,9	19,4±2,6	Ferrugineux Sablo-argileuse

Tableau2 : Répartition et caractéristiques des populations étudiées

Zones écologiques	Peuplement	Pourcentage de bois de cœur (%)				Durabilité naturelle	Couleur du bois		
		BC	1,30m-T	5m -T	SH		L*	a*	b*
Zone 1	Loko (13)	35,1% ±12,8	26,2% ±12,6	-	-	Plus durable	47,02 ± 4,34	9,95 ± 2,15	20,55 ± 2,15
	Natitikpi (70)	74,0% ±9,4	72,3% ±8,5	61,0% ±5,4	64,3% ±7,0				
Zone 3	Avétonou(24)	60,9% ±5,3	63,7% ±1,7	59,5% ±4,9	60,3% ±5,07	Moins durable	48,68 ± 3,83	12,77 ± 0,86	23,39 ± 2,25
	Avétonou(46)	69,8% ±2,4	69,3% ±2,3	63,4% ±3,4	59,4% ±2,5				
Zone 5	Etô(11)	44,3% ±10,9	42,1% ±13,4	31,5% ±9,9	20,6% ±10,6	Plus durable	44,35 ± 5,36	7,64 ± 1,86	22,00 ± 3,51
	Lilicopé(29)	69,1% ±6,5	65,7% ±6,6	66,5% ±8,45	51,3% ±8,8				

Tableau 3 : Caractéristiques technologiques des populations

BC = Base du tronc ; 1,30-T = 1,30m du tronc ; 5m-T = 5m du tronc ; SH = sous- houpplier.

L* = clair ; a* = rouge ; b* = jaune.

Source : Kokutse, 2002

sont ensuite fermés de façons étanches et fixées à un portoir après que leur contenu soit mélangé vigoureusement au vortex. On fixe le portoir dans le bain-marie de manière à ce que les tubes soient allongés horizontalement, et on y laisse incubé une heure sous agitation modérée à 65°C, pour faciliter la lyse des cellules et extraire les polyphénols. Au bout de ce temps, les tubes sont sortis et on les laisse refroidir plusieurs minutes (la température doit descendre sous 60°C).

2.2 Déprotéinisation

Cette phase est basée sur le principe de la solubilité différentielle des molécules entre deux phases (polaire et apolaire) non miscible. L'ADN libéré par lyse des cellules et des noyaux, est débarrassé d'une grande partie des protéines et aussi d'autres impuretés.

On a ajouté sous une hotte aspirante 5 ml de mélange chloroforme/alcool isoamylique au tube refroidis. La solution dans chaque tube est agitée doucement pendant 5mn par inversions douces avant d'être centrifugé à 4500 rpm à température ambiante pendant 10 mn. Le surnageant contenant l'ADN, est récupérée avec précaution à l'aide d'une pipette poire, tout en évitant de prélever l'interphase contenant les protéines dénaturées mélangées aux débris végétaux.

Au surnageant transvasé dans de nouveaux tubes stériles de 13 ml, on ajoute à nouveau 5 ml de mélange chloroforme/alcool isoamylique, le tout est mélangé comme dans le premier lavage et centrifuger dans les mêmes conditions mais cette fois-ci pendant 15 mn.

2.3 Précipitation de l'ADN

La phase supérieure aqueuse des tubes centrifugés (second lavage) est récupérée à l'aide d'une pipette poire et reversées dans de nouveaux. On ajoute 5 ml d'isopropanol froid et 7 µl de NaCl à chaque tube. Après avoir mélangé par inversions douces la solution, on laisse précipité l'ADN, en mettant les tubes au congélateur à -20°C pendant 30 mn ou à -80°C pendant 15 mn. Au bout de ce temps, les tubes sont sortis et centrifugés à nouveau à 4500rpm pendant 5 mn. On élimine le surnageant. Les culots d'ADN de taille et de couleur variable selon l'échantillon, reste au fond des tubes.

2.4 Purification de l'ADN

Les culots obtenus à l'étape précédente sont rincés chacun avec 700 µl d'éthanol à 70%. L'alcool est ensuite éliminé après que les culots soient transférés dans des tubes Eppendorf stériles de 1,5 ml. Les culots sont ensuite séchés au speed-vac environ 3 à 10 mn, à

température médium. Ils sont enfin dissous à température ambiante dans 100 à 200 μ l d'eau stérile selon la taille, et conservés à -20°C avant dosage.

3. Dosage de l'ADN

Le dosage a été réalisé par fluorimétrie. Le principe de cette méthode est basé sur la propriété que possède la solution fluorescente de Hoescht de se fixer sur l'ADN ; la quantité de fluorescence émise par le Hoescht aggloméré est proportionnelle à la quantité d'ADN dosée.

On dépose 2 μ l de chaque solution d'ADN à doser dans une micro plaque tout en laissant la première colonne. Dans cette dernière on met une solution étalon d'ADN de thymus de veau de concentration croissante (0 à 300ng/). 2 μ l d'ADN de cocotier à 100 ng/ μ l, servant de témoin, est déposé dans le dernier puit de la première colonne.

A chaque puit, est ajouté 200 μ l de mix de dosage, préparé avec 45 ml d'eau Merck filtrée, 10 μ l de Bis benzimide Hoechst (0.1 μ g/ml) et 5 ml de tampon fluorescent TNE 10X.

Les concentrations d'ADN ont été enfin déduites des courbes étalons construites à partir des valeurs de fluorescence obtenues. Les résultats sont présentés en annexe 2.

Après le dosage, les solutions d'ADN sont diluées à 5 ng/ μ l.

4. Contrôle de la qualité de l'ADN

Il est réalisé par électrophorèse sur gel d'agarose à 1%, dans un tampon de migration TBE 0,5X, sous un courant de 130V.cm et ensuite par révélation dans le BET (Bromure d'Ethidium).

Le principe de l'électrophorèse est de déplacer sur le gel les ions chargés sous l'effet d'un champ électrique. La vitesse de déplacement est inversement proportionnelle à la taille de l'ion.

Le BET a pour propriété de s'intercaler dans les brins d'ADN et à fluorescer aux Ultra Violets (UV). La quantité d'ADN est proportionnelle à la quantité de fluorescence émise par le BET.

L'ADN en solution a une charge négative compte tenu de l'ionisation de ses groupes phosphates va donc migrer, de la cathode vers l'anode. Sa quantité de fluorescence comparée à celle du phage lambda (ADN de concentration connue, servant d'échelle de poids moléculaire) donnera plus de précision sur la quantité et la qualité de l'ADN dosé.

Un gel d'agarose est préparé à partir de l'agarose solide (en poudre) mélangés à du TBE 0.5X, le tout est chauffé sous agitation afin de dissoudre totalement l'agarose. Les volumes à prélever dépendent de la concentration et de la taille du gel que l'on veut préparer.

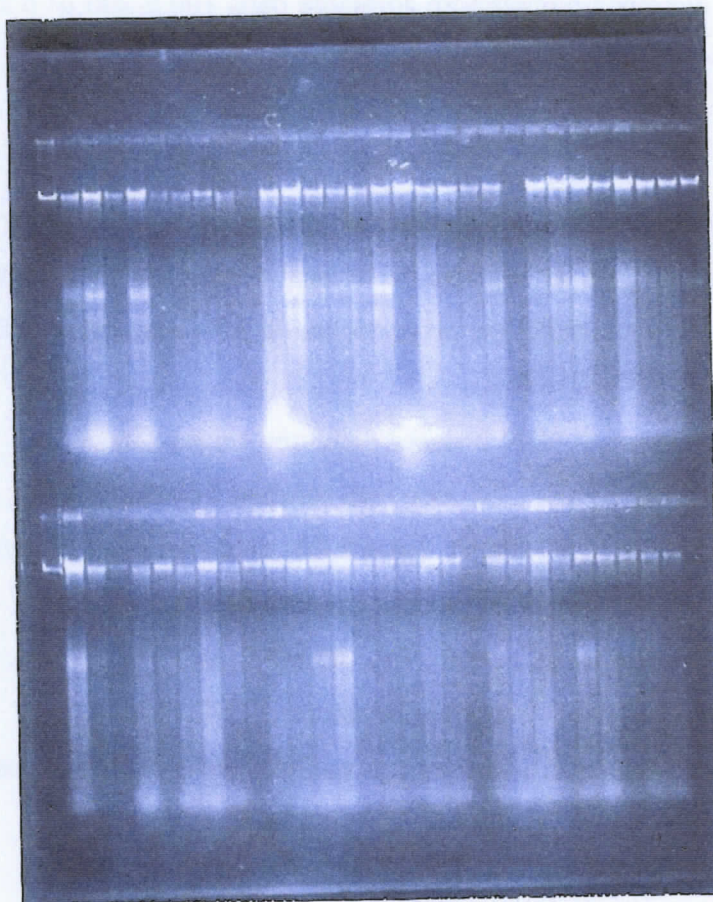


Figure 2 : Révélation d'ADN sur gel d'Agarose

Amorces	Taille moy(Pb)	m13	Motif	
			Forme R	Forme F
4TD12	123	700	A(GA)4	(GA)4(N)5(GA)11
3TB2	211	700	(TC)11GC(TC)4	(N)63(AC)7
2TB7	126	700	(TC)14	(TC)14
4TF2	205	700	(TC)11	(TC)4(AC)3(N)16
1TB3	235	700	(TC)5TG(TC)8	(AC)5(N)65(AC)14
3TF1	199	800	(TC)16	(TC)16
2TC3	274	800	(GA)17	(GA)17
1TA6	188	800	(GA)15	(GA)15
1TF5	260	800	(GA)20GT(GA)3	(GA)20GT(GA)3

Tableau 4 : Caractéristiques des 9 amorces

La solution limpide obtenue est coulée dans un plateau après refroidissement. On y introduit des peignes dont les empreintes des dents constitueront après solidification du gel, des puits dans lesquels seront déposés 12 µl de solution (10ml d'ADN à 5% et 2 µl de bleu de bromophénol). La phage lambda (5 ng/µl) est déposé à chaque extrémité des peignes. Le plateau est placé dans la cuve de migration contenant suffisamment du TBE 0.5X. Enfin la photo du gel est prise sous UV (100%) après son passage au bain léger dans le BET. La présence de bandes nettes atteste de la bonne qualité alors que les traînées (smear) correspondent à un ADN dégradé (Figure 2).

5. Amplification PCR des locus microsatellites

Les 15 amorces microsatellites mises au point par Verhaegen et al. en 2005 sont utilisées pour la PCR de nos échantillons.

La PCR (Polymerase Chain Reaction) est une technique qui permet une amplification sélective in vitro de séquence d'ADN. Elle se fait en présence des oligonucléotides (amorces) et d'une ADN polymérase (Taq ADN polymérase). Son principe repose sur la répétition de trois processus:

- La dénaturation des deux brins d'ADN à température élevée afin d'obtenir des molécules d'ADN monocaténaire. Dans les conditions de notre étude, elle est faite à 94°C.
- L'hybridation des amorces complémentaires d'une séquence de l'ADN monocaténaire cible. Elle est faite à une température plus faible comprise entre 40°C et 65°C afin de permettre une bonne fixation des amorces. Nous l'avons faite à 51°C.
- et, la réaction d'élongation par la Taq polymérase à partir des oligonucléotides, réalisée à température optimale de 72°C.

Les amorces à amplifier se présentent sous forme de couples Lower (L) et Uper (U), et pour chaque couple, une queue M13, est ajoutée sur l'extrémité 5' de l'amorce lower (L). La queue M13 est une séquence de nucléotide de 19 paires de bases : 5'-CACGACGTTGTAAAACGAC-3'. Elle est complémentaire à celle marquée par un fluorochrome spécifique de type IRD 700 (Pentaméthine carbocyanine) ou IRD 800 (heptaméthine cyanine). La queue M13 s'hybride alors avec la séquence complémentaire lors de la PCR. Ce complexe forme donc la partie du produit d'amplification qui émet un signal fluorescent lorsqu'il est soumis à des émissions infrarouges d'une longueur d'onde de 700 nm ou de 800 nm selon le type de fluorochrome ajouté à la réaction d'amplification. Les produits amplifiés sont en effet visualisés grâce aux signaux émis.

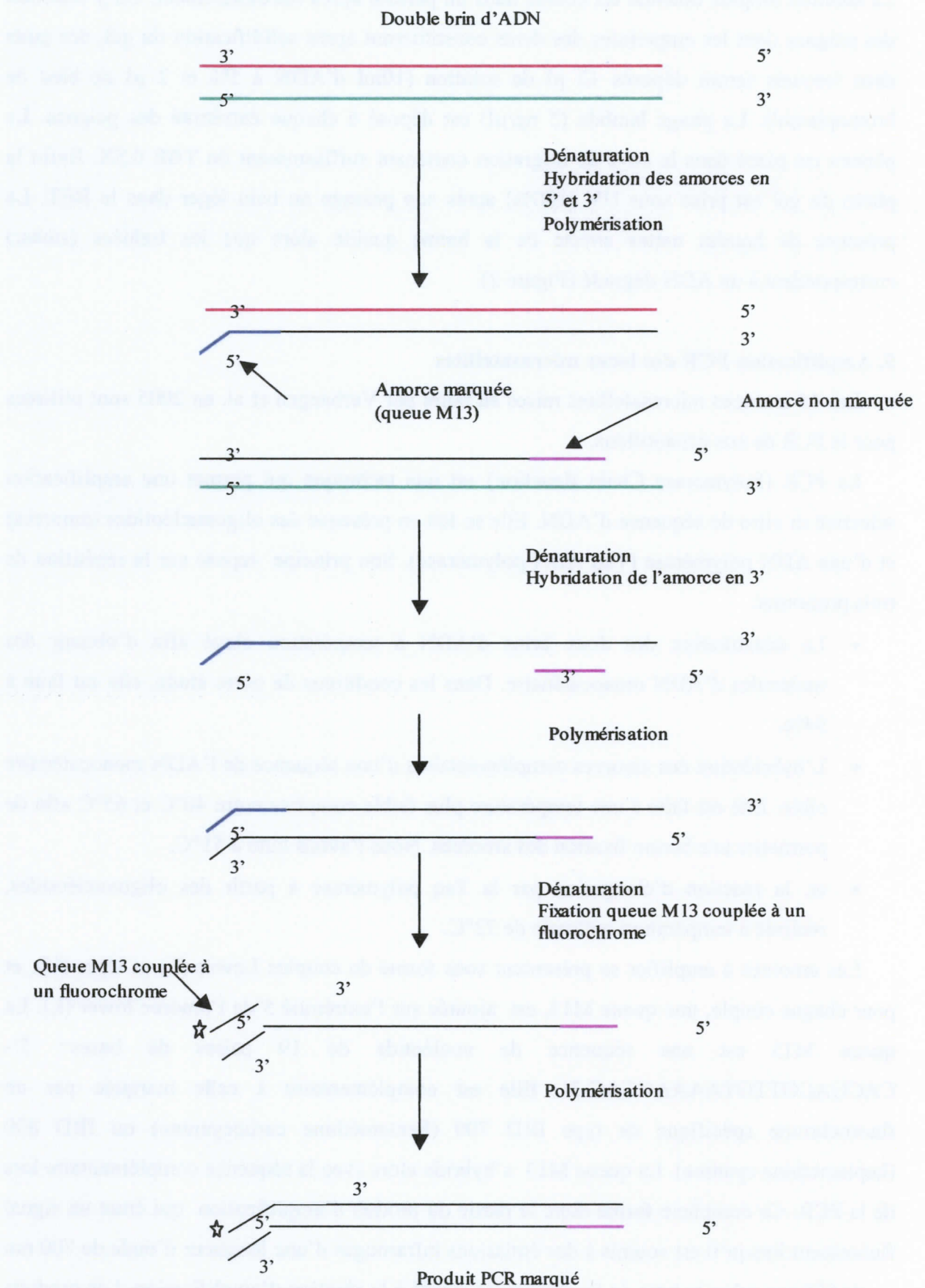


Figure 3 : Principe de la PCR-microsatellites

Il est à noter qu'après les PCR avec les 15 amorces et les migrations sur gels des produits (décrit plus bas), nous avons éliminé 6 amorces qui amplifiaient faiblement ou pas du tout. Les analyses ne se feront que sur les 9 amorces du tableau 4. Le principe de la PCR se résume comme le montre la figure 3.

5.1 PCR des échantillons du Togo

Les PCR ont été réalisées en plaque de 96 puits, le plan et les conditions d'expérience sont indiquées en annexe 3. Les 15 couples d'amorces microsatellites ont été amplifiées séparément.

5.2 PCR des ADN-témoins

Quelques échantillons de la Côte d'Ivoire (i) et du Ghana (g), extraits lors des études antérieures (Fofana 2003 ; Ofori 2003), ont servi de témoins. Les ADN-témoins sont amplifiés pour servir de Ladder internes et permettre une lecture plus aisée des allèles de nos échantillons dans les manipulations à venir.

Le Ladder interne a été préparé pour chacune des amorces en mélangeant les produits PCR de deux ou trois échantillons témoins la taille des allèles est connue. 50 µl de produit PCR est préparé par échantillon dilué à 5 ng/µl. Voir (annexe 4) pour les conditions PCR. Les échantillons amplifiés sont révélés sur gel d'agarose 1,8%. Au final, 60 µl de ladder est obtenu en mélangeant les échantillons (par locus) en volume proportionnel à leur intensité d'amplification.

6. Migration d'ADN sur gel d'acrylamide et visualisation du profil sur séquenceur automatique LICOR

Le séquenceur Licor utilise la fluorescence infra rouge pour détecter l'ADN. Il détecte les deux longueurs d'onde (700 et 800 nm) en même temps sans chevauchement des spectres. Un programme informatique associé permet de créer deux fichiers images indépendantes pour un même dépôt, un fichier contenant les informations à 700 nm et un autre pour les informations à 800 nm. Une diode laser lit le gel lors de la migration. Grâce au logiciel Base ImageIR le profil de la migration est visualisé sur l'ordinateur ; il se présente sous forme de bande plus ou moins foncée correspondant à une forme allélique du marqueur. Ce profil stocké alors sous forme de format numérique sera lu au moyen du logiciel SAGA.

On réalise un mélange de produits d'amplifications de quatre marqueurs microsatellites, deux à 700 et deux à 800 nm, dans une micro plaque de 96 puits. Dans la

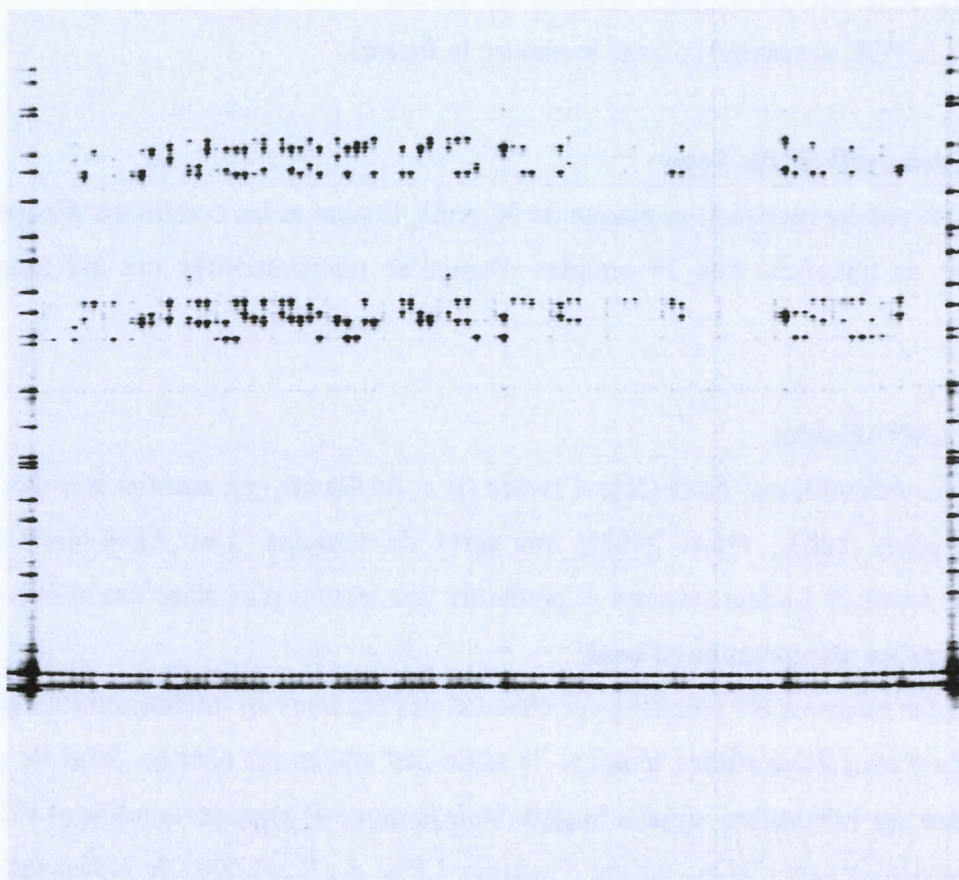


Figure 4 :
Révélation d'ADN sur gel d'Acrylamide : Locus 2TC3 en bas et le locus 3TF1 en haut

première et la septième colonne, sont déposés le multiplex d'ADN témoins (Côte d'Ivoire, et Ghana). Les autres puits sont occupés par les échantillons du Togo. A ces échantillons, sont ajoutés du bleu formamyl et des bandes de "desmiling" qui sont des fragments d'ADN de tailles connues qui encadrent les allèles des loci. Ce mélange homogénéisé, est dénaturé pendant 3mn à 94°C. La structure simple est maintenue en plaçant immédiatement la plaque dans la glace. Avant de déposer le mélange dénaturé, il est important de faire une pré-migration de 30mn pour chauffer le gel, et aligner le laser et les caméras. Le mélange est ensuite déposé sur un gel polyacrylamide résolutif à 6.5%. Il est à noter qu'un marqueur de taille est déposé dans les deux pistes encadrant les autres. La migration est faite à 1500V, 35mA, 40W, 48° pendant environ une heure et demi. La figure 4 montre le résultat d'une migration sur le séquenceur Licor pour les locus 2TC3 et 3TF1.

Les images brutes des gels sont récupérées et importées dans SAGA (génération2, version3.2), logiciel qui détecte les bandes selon leur intensité et évalue la taille des séquences microsatellites de chaque locus pour l'ensemble de la population, et donne ainsi la diversité allélique de chaque population.

7. Analyses moléculaires des données

Il est à noter qu'après avoir obtenu la diversité allélique des populations avec SAGA, pour limiter les résultats biaisés par les données manquantes, nous avons éliminé tous les individus qui n'ont pas amplifié pour trois locus et plus. Ainsi sur les 177 individus de départ, les analyses n'ont été faites que sur 112 individus.

7.1 Estimation du taux d'erreur de génotypage

Avant les analyses, nous avons estimé les erreurs possibles de génotypage afin d'évaluer la fiabilité de nos résultats. Les taux moyens d'erreur par allèle et par locus ont été calculés en s'inspirant de la méthode de Pompanon et al. 2005. Les erreurs de génotypage ont été estimées sur les témoins, qui ont servi de ladders internes (annexe 5), répétés 16 fois par gel avec les formules qui suivent.

- Taux d'erreur par allèle (e_a) : $e_a = m_a / 2nt$, avec m_a , le nombre d'allèles différents de celui de référence et $2nt$, le nombre d'allèles répliqués.
- Taux d'erreur par locus (e_l) : $e_l = m_l / nt$; m_l représente le nombre de locus contenant au moins un allèle différent de celui de référence et nt , le nombre de locus répliqués.

Nous avons donc établi un tableau (annexe 6) à partir duquel les taux d'erreurs ont été estimés.

7.2 Tests des erreurs liées aux erreurs de réplication du motif microsatellite, de détermination des allèles nuls et des allèles qui amplifient moins.

Le logiciel Microchecker nous a permis de tester dans les populations, la présence possible d'allèle nul et d'allèle amplifiant très peu pour chaque locus étudié ainsi que les erreurs de réplication du motif microsatellite. Ils sont obtenus avec un nombre de permutations fixé à 5000. Ce dernier a été choisi après avoir fait varier les valeurs entre 1000 à 10000 et remarqué que les résultats restaient les mêmes.

7.3 Calcul des paramètres de diversité

Les différents paramètres de diversité génétique sont calculés à partir du logiciel Genetix 4.05 pour chacune des populations. Il s'agit : du taux d'hétérozygotie attendu (H_e) et d'hétérozygotie observée (H_o) sous l'équilibre de Hardy-Weinberg, du nombre d'allèles observé pour l'ensemble des locus (A_o). La différenciation génétique des populations a été mise en évidence par les F-statistiques (F_{st} , F_{is} , F_{it}) décrites initialement par Wright (1969), corrigées par Weir et Cockerham (1984).

Les F-statistiques ont été calculés avec Genetix :

- F_{is} est un indice de différenciation qui exprime la corrélation des gènes chez les individus dans une même population
- F_{st} estime la corrélation des gènes entre individus dans une population par rapport à l'ensemble des populations
- F_{it} est l'indice de fixation qui estime la corrélation des gènes chez les individus sur l'ensemble de l'échantillon

La diversité génétique entre les populations de teck du Togo a été aussi estimée par les distances génétiques de Nei (1978) et celles de Cavalli-Sforza (1964).

7.4 Détermination des effets liés à la structure génétique des populations

Pour étudier les effets liés à la structuration des populations, une AMOVA (Analysis of Molecular Variance) a été réalisée. Cette méthode d'analyse effectuée par le logiciel Arlequin 2.0, permet d'évaluer la variation individuelle entre les populations d'une même région et entre les régions. Elle est basée sur la variance des fréquences alléliques.

Une analyse factorielle des correspondances (AFC) en trois dimensions a été faite sur les populations avec le logiciel Genetix 4.05, dans le but toujours de cerner la structure génétique des peuplements étudiés.

LOCUS	ALLELES	Nbre attendu	Nbre amplifié	Nbre obtenu	Nbre total d'allèles obtenus	Nbre d'erreur par allèle	Nbre d'erreur par locus	Tx d'erreur par allèle	Tx d'erreur par locus
4TD12	129	32	31	31	155	0	0	0	0
	139	32	31	28		0		0	
	145	32	31	31		0		0	
	161	32	31	31		0		0	
	167	32	31	31		0		0	
						0		0	
3TB2	217	32	31	29	186	0	0	0	0
	232	32	31	31		0		0	
	236	32	31	31		0		0	
	238	32	31	31		0		0	
	248	32	31	31		0		0	
	250	32	31	31		0		0	
2TB7	129	32	29	1	120	1	1	0.008	0.033
	131	32	30	30		0		0	
	145	32	30	30		0		0	
	157	32	30	30		0		0	
1TB3	236	32	31	30	124	1	2	0.01	0.006
	242	32	31	31		0		0	
	244	32	31	31		0		0	
	246	32	31	30		1		0.01	
4TF2	217	32	32	32	192	0	0	0	0
	225	32	32	32		0		0	
	227	32	32	32		0		0	
	229	32	32	32		0		0	
	231	32	32	32		0		0	
	243	32	32	32		0		0	
1TA6	193	32	30	30	150	0	0	0	0
	195	32	30	30		0		0	
	201	32	30	30		0		0	
	205	32	30	30		0		0	
	221	32	30	30		0		0	
1TF5	249	32	32	30	128	0	0	0	0
	259	32	32	30		0		0	
	269	32	32	30		0		0	
	279	32	32	30		0		0	
3TF1	200	32	32	32	192	0	0	0	0
	208	32	32	32		0		0	
	212	32	32	32		0		0	
	214	32	32	32		0		0	
	216	32	32	32		0		0	
	232	32	32	32		0		0	
2TC3	269	16	16	16	80	0	0	0	0
	279	16	16	16		0		0	
	285	16	16	16		0		0	
	287	16	16	16		0		0	
	295	16	16	16		0		0	
	305	16	16	16		0		0	
Tableau 5					80	0	0	0	0

7.5 Construction de dendrogramme

La représentation arborée des populations est effectuée par le logiciel DARwin5 (version 5.0.142) en utilisant la méthode de Neighbor-Joining (NJ). Le principe de la représentation arborée est de présenter le mieux possible la dissimilarité choisie pour décrire en détail les relations entre populations.

7.6 Détermination de l'origine probable du teck en plantation au Togo

L'origine probable du teck du Togo a été déterminée avec le logiciel Gene classe2 en utilisant les bases de données du CIRAD de l'aire d'origine (Inde, Thaïlande, Laos).

V- RESULTATS

1. Estimation d'erreur de génotypage

Le taux d'erreur par allèle pour chaque locus et le taux d'erreur de chaque locus sont mentionnés dans le tableau 5. A partir de ces valeurs le taux d'erreur moyen par allèle s'estime à 0,052% pour les 46 allèles des 9 locus. Le taux moyen d'erreur par locus est d'environ 0,26%. Les erreurs de génotypage semblent donc faibles dans notre étude.

2. Tests des erreurs liées aux erreurs de réplication du motif microsatellite, de détermination des allèles nuls et des allèles qui amplifient moins

La présence d'allèles nuls et ceux amplifiant moins est détectée dans les populations de Natitkpi, d'Avétonou 1 d'Avétonou 2, de Lilicopé et d'Etô pour le locus 1TF5. Pour le locus 1TA6, seuls les allèles nuls sont détectés dans la population d'Avétonou 1 (tableau 6).

3. Diversité génétique

Les principaux paramètres de génétique des populations sont consignés dans le tableau 7. Le nombre moyen d'allèle par population varie entre 4 et 6. On remarque que les populations d'Avétonou (1 et 2) présentent le maximum d'allèles. Leur richesse allélique serait en rapport avec leur plus grand nombre d'individus (22 et 28). Nous pouvons supposer que les populations de Loko et de Lilicopé possèdent un niveau de diversité similaire compte tenu du fait que les nombres d'individus étudiés sont également plus faibles (10 et 11).

POPULATION	LOCUS	He	Ho	Allèle nul	Slippage	Allèle massif
Loko	2TB7	5.4	4	0	0	0
	3TF1	2.2	0	0	0	0
	2TC3	2.95	0	0	0	0
	1TF5	2.642	4	0	0	0
	1TA6	1.928	0	0	0	0
	4TF2	2.5	2	0	0	0
	1TB3	3	1	0	0	0
	4TD12	3.25	4	0	0	0
	3TB2	2.625	3	0	0	0
Natitikpi	2TB7	7.599	8	0	0	0
	3TF1	5.458	2	0	0	0
	2TC3	5.32	3	0	0	0
	1TF5	7.785	16	1	1	0
	1TA6	5.704	7	0	0	0
	4TF2	8.239	2	0	0	0
	1TB3	7	6	0	0	0
	4TD12	9.456	7	0	0	0
	3TB2	8.019	5	0	0	0
Avétonou 1	2TB7	7.545	8	0	0	0
	3TF1	4.225	5	0	0	0
	2TC3	4.724	4	0	0	0
	1TF5	10.86	12	0	0	0
	1TA6	5.68	10	1	0	0
	4TF2	6.34	7	0	0	0
	1TB3	4.636	8	0	0	0
	4TD12	11.48	11	0	0	0
	3TB2	4.612	3	0	0	0
Avétonou2	2TB7	8.439	8	0	0	0
	3TF1	5.517	4	0	0	0
	2TC3	5.518	3	0	0	0
	1TF5	13.02	21	1	1	0
	1TA6	6.66	2	0	0	0
	4TF2	10.33	8	0	0	0
	1TB3	7.053	5	0	0	0
	4TD12	8.259	7	0	0	0
	3TB2	9.592	13	0	0	0
Lilicopé	2TB7	5.04	5	0	0	0
	3TF1	3.954	4	0	0	0
	2TC3	4.099	6	0	0	0
	1TF5	3.071	6	1	1	0
	1TA6	3.545	3	0	0	0
	4TF2	5.954	6	0	0	0
	1TB3	3.45	2	0	0	0
	4TD12	4.722	2	0	0	0
	3TB2	3.687	4	0	0	0
Etô	2TB7	6.5	9	0	0	0
	3TF1	2.599	1	0	0	0
	2TC3	3.153	1	0	0	0
	1TF5	4.269	5	1	0	0
	1TA6	3.875	3	0	0	0
	4TF2	4.906	4	0	0	0
	1TB3	4.099	5	0	0	0
	4TD12	4	4	0	0	0
	3TB2	6	7	0	0	0

Tableau 6 : test d'allèles nuls

Les taux d'hétérozygotie observés dans toutes les populations sont très proches des taux d'hétérozygotie attendu sous l'équilibre de Hardy Weinberg. D'autre part, l'indice de fixation F_{IS} est compris dans l'intervalle de confiance pour toutes les provenances ; elle est pour cette raison non significative. L'indice de différenciation F_{ST} moyenne est quant à elle égale à 0,028. Elle est aussi non significative, la F_{IT} également, voir tableau 8.

Population (nombre d'individu)	Taux d'hétérozygotie attendu	Taux d'hétérozygotie observé	Nombre moyen d'allèle par population	F_{IS}	Intervalle de confiance du F_{IS}
Loko (10)	0.6945	0.7409	3.8889	-0.07008	(-0.27481 - -0.07008)
Ecart-type	0.2164				
Natitikpi (25)	0.707	0.725	5.7778	-0.02587	(-0.14298 - -0.00467)
Ecart-type	0.2072				
Avetonou 1 (22)	0.6894	0.6328	6.3333	0.08392	(0.02474 - 0.21265)
Ecart-type	0.1625				
Avetonou 2 (28)	0.7085	0.7088	6.3333	-0.00035	(-0.06116 - 0.05430)
Ecart-type	0.213				
Lilicope (11)	0.6174	0.5602	3.8889	0.09909	(-0.07933 - 0.16500)
Ecart-type	0.2191				
Eto (16)	0.713	0.6953	6	0.0256	(-0.08082 - 0.07684)
Ecart-type	0.1765				

Tableau 7 : Quelques paramètres de diversité génétique

F-stat	Moyenne	Intervalle de confiance
FIS	0.0169	(-0.04888 - 0.12403)
FIT	0.04489	-0.02400 - 0.15719
FST	0.03847	0.01795 - 0.04074

Tableau 8 : Les valeurs moyennes des F-statistiques

Par ailleurs les analyses de distances génétiques entre les populations évaluées avec la méthode de (Néi, 1978), et celle de Cavalli-Sforza et Edwards (1967), révèlent une faible distance entre les populations. Toutefois, la première montre une distance génétique plus élevée entre les tecks d'Avetonou et ceux d'Etô (0,148). La seconde méthode trouve une distance génétique plus élevée entre les populations Etô et Loko (0,9). Une plus faible distance est observée avec les deux méthodes entre Natitikpi et Avetonou 2, (voir tableau 9)

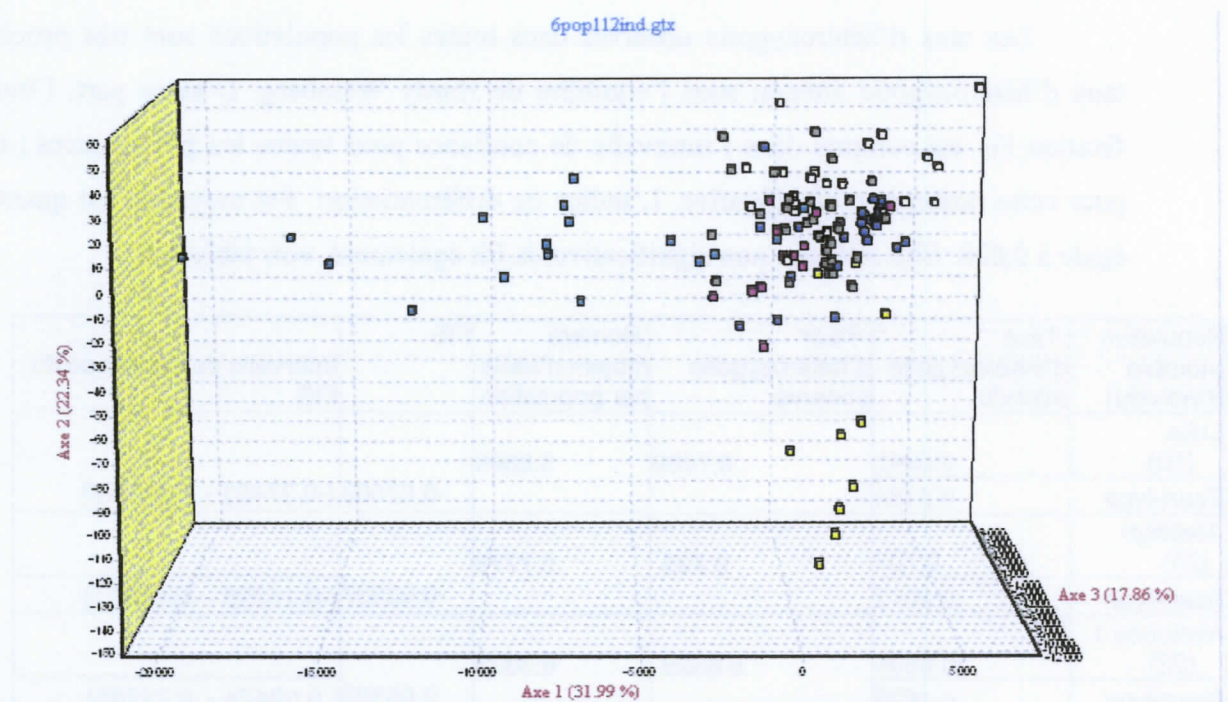


Figure 5 : Représentations des populations selon leur centre de gravité (AFC)

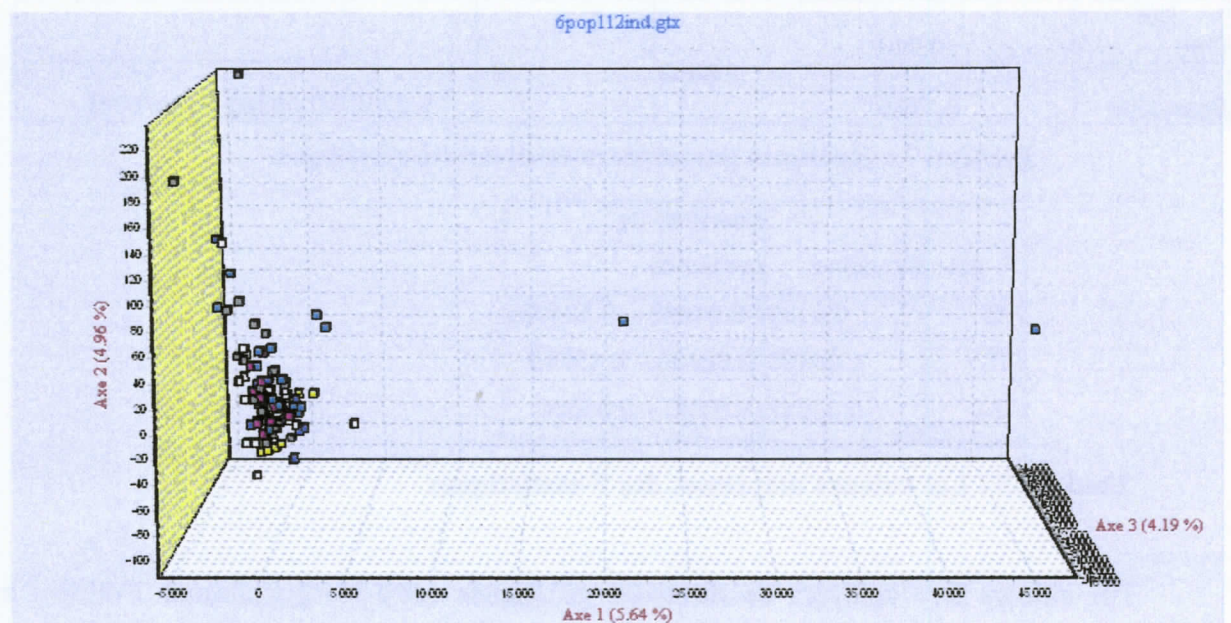


Figure 6 : Représentation des populations en trois dimensions (AFC, 3D)

	Loko	Natitikpi	Avétonou 1	Avétonou2	Lilicopé	Etô
Loko	0	0.046	0.083	0.053	0.038	0.069
Natitikpi	0.059	0	0.069	0.0229	0.101	0.098
Avétonou1	0.076	0.039	0	0.069	0.069	0.148
Avétonou2	0.069	0.04	0.041	0	0.062	0.101
Lilicopé	0.08	0.065	0.052	0.054	0	0.045
Etô	0.09	0.069	0.069	0.054	0.07	0

Tableau 9 : Distances génétiques de Néi (1978) en dessous de la diagonale et les distances de Cavalli Sforza (1964) au-dessus.

4. Analyse des effets de la structuration génétique des populations

4.1 Analyse AMOVA

L'analyse AMOVA montre que la variabilité du teck provenant des six populations du Togo est essentiellement exprimée au sein des populations et plus faiblement entre les populations ou entre les zones écologiques. Sur 100% de variation en effet, 95,34% proviennent de la variation observée au sein des populations et seulement 2,35% résulte de la variation entre les populations d'une même région et enfin seulement 2,3% entre les régions, (Tableau 10).

Source de variation	Degré de liberté	Composantes de la variation	Pourcentage de variation (%)
Entre régions	2	0.03521	2.30
Entre populations au sein d'une région	3	0.06611	2.35
Au sein des populations	218	3.12488	95.34

Tableau 10 : Résultats des analyses de variance moléculaire (AMOVA)

4.2 Analyse Factorielle des Correspondances et dendrogramme

L'AFC en trois dimensions et l'AFC se basant sur les centres de gravité des populations sont faites. Tous les résultats montrent un regroupement des populations. Seuls quelques individus restent distants, (Figures 5 et 6).

L'arbre phylogénétique (dendrogramme) est représenté sur la figure 7

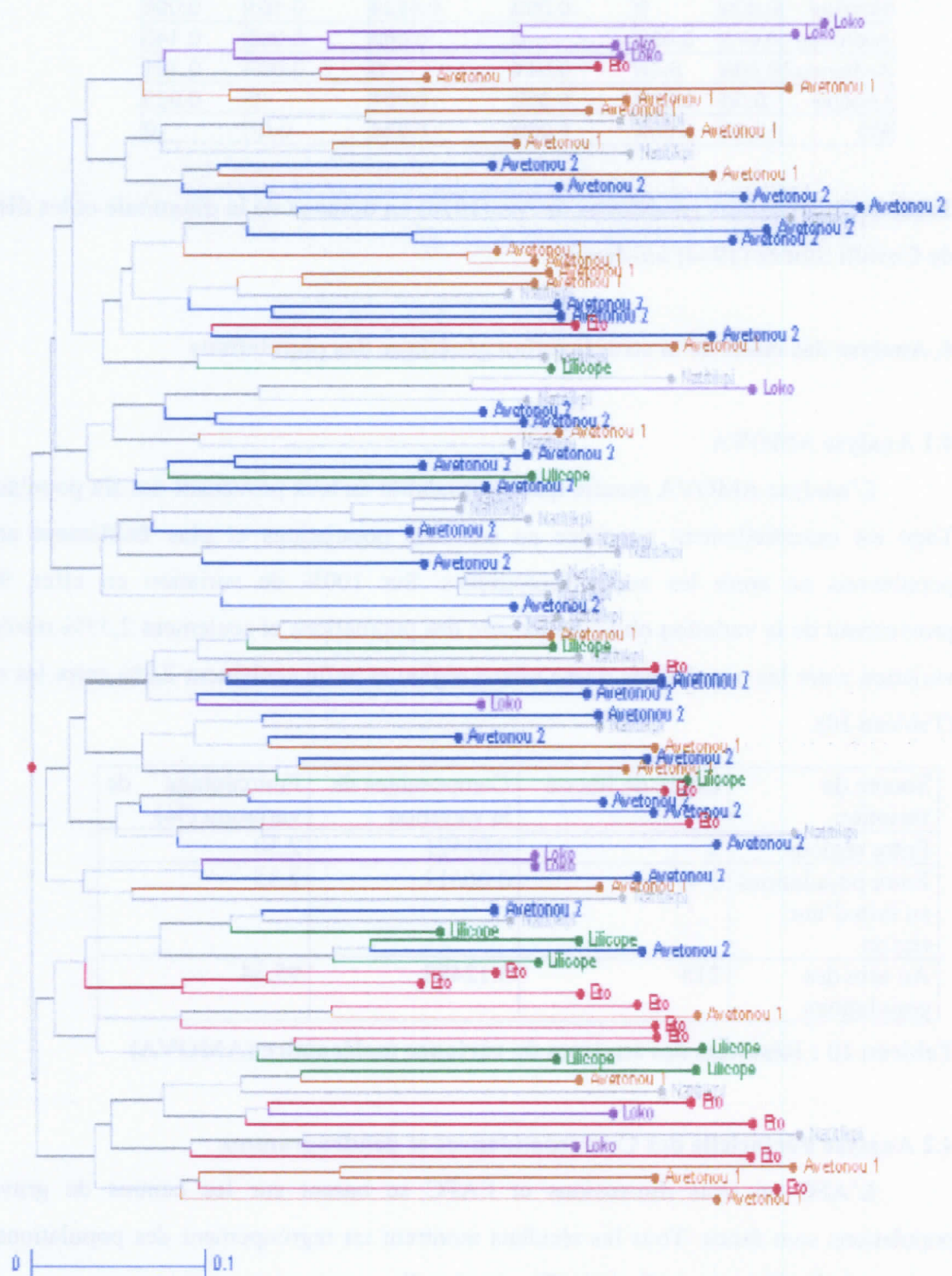


Figure 7 : Arbre phylogénétique des populations.

5. Origine naturelle probable du teck en plantation au Togo

D'après nos analyses 111 individus sur les 112 analysés proviendraient du Nord de l'Inde. Un seul individu (Loko1) pourrait être originaire de Thaïlande (99%) sans toute fois exclure l'Inde comme origine probable (1%).

VI- DISCUSSION

1. Erreur de génotypage

Les résultats obtenus avec les marqueurs moléculaires sont rarement présentés en tenant compte des erreurs de génotypage qui pourtant existent. Les erreurs de génotypage surviennent quand le génotype déterminé ne correspond pas au génotype réel au quel on peut s'attendre (Bonin *et al.* 2004). Une revue bibliographique a montré que ces erreurs proviennent de diverses origines. Ces causes peuvent être regroupées en quatre catégories selon Pompanon *et al.* 2005 : erreur liée à la séquence même de l'ADN ; erreur due à la mauvaise qualité ou à la quantité de l'ADN ; les artéfacts biochimiques et les facteurs humains.

Une mutation peut subvenir potentiellement au sein de l'ADN et cette séquence mutée peut être lue dans les processus d'amplification d'un marqueur. La délétion ou l'insertion affectant un marqueur microsatellite par exemple, engendre des formes d'homoplasie.

La mauvaise qualité de l'ADN influence la PCR, les allèles de petite taille sont plus amplifiés que les allèles de grande taille qui amplifient moins.

Les artéfacts biochimiques trouvent leur source pendant la phase d'élongation de la PCR ; la Taq polymérase a tendance à ajouter un nucléotide (souvent en adénine) à l'extrémité 3' de la nouvelle séquence synthétisée (Pompanon *et al.* 2005). Cette greffe de nucléotide crée des bandes d'artéfacts et des pics qui influencent négativement les résultats de séquençage. L'artéfact est très sensible à l'extrémité 5 du marqueur utilisé pour les essais de génotypage, aux conditions PCR et aux temps d'élongation élevés.

Les facteurs humains d'erreur de génotypage sont aussi importants et divers. Ils vont des manipulations de laboratoire aux analyses des données. Les erreurs de pipetage, la méthode d'échantillonnage, la préparation des mix, la mauvaise programmation des appareils et la lecture subjective des allèles sont autant de faits contribuant aux erreurs de génotypage.

Une étude récente a montré que les facteurs humains représenteraient environ 93% des erreurs de génotypage (Hoffman et Amos, 2005).

Les erreurs de génotypage ont des conséquences non négligeables et leur prise en compte dans toute étude moléculaire s'avère indispensable à la valorisation des résultats. Cependant l'estimation est très rarement envisagée par les généticiens. En génétique des populations, cette démarche constitue un sujet tabou (Bonin *et al.* 2004). Des études montrent que sur toutes les recherches menées depuis 1989 sur l'évaluation d'erreur de génotypage, seul 2% sont réalisées sur les plantes contre 66% en génétique humaine et 22% dans le domaine animal (Source : site ISI des Sciences).

Nous avons estimé les erreurs possibles de génotypage de notre étude. Le taux moyen d'erreur par allèle vaut environ 0,05% et par locus, le taux d'erreur est estimé à 0,26%. Les erreurs de génotypage notée pour notre étude est faible comparativement à celles estimées lors des études sur les marqueurs microsatellite (0,8% par locus : Bonin *et al.* 2004 ; Pompanon *et al.* 2005).

2. Les allèles nuls et allèles amplifiant moins

Un taux d'homozygotie observé dans une population peut être supérieur au taux d'homozygotie attendu à cause de la présence d'allèle nul et la non détection d'allèles qui amplifient moins. On pourrait faire une fausse interprétation des résultats si on n'estime pas ces erreurs. Pour cette étude aucun allèle de grande n'a été trouvé dans toutes les populations et à tous les locus. Le locus 1TF5 renferme des allèles nuls dans différentes populations. Il faudrait peut-être supprimer ce locus de nos analyses. La présence d'allèle nul dans une population avec le locus 1TA6 laisse supposer que ce résultat est probablement lié à l'échantillonnage puisque le locus ne présente pas d'allèle nul dans les autres populations.

3. Diversité génétique des tecks en plantation au Togo

L'analyse de la diversité a permis de mettre en évidence un niveau d'hétérozygotie (H_o) relativement élevé au sein des six provenances de teck. Cette observation est en adéquation avec un régime de reproduction allogame qui serait celui de l'espèce. D'autres part, une richesse allélique est aussi observée pour les populations les plus représentées dans l'étude notamment celles d'Avétonou1 et 2. Cependant il est aussi à remarquer que les populations de Natitikpi présentent un niveau de diversité plus faible (5,77 allèles) par apport à celles d'Etô bien qu'elle soit plus représentée (25 individus) que cette dernière qui possède 6 allèles en moyenne par locus pour les 16 individus. Les populations de Loko et de Lilicopé

pourraient présenter un nombre moyen d'allèles plus élevé si la taille de ces populations était plus élevée.

Par ailleurs, les F-statistiques (Fis, Fit, Fst) moyennes sont non-significatives. Néanmoins, on observe des Fis positives dans les populations d'Avétonou1 (0,083) et celles de Lilicopé (0,099). Ceci traduit un léger déficit d'hétérozygotes dans ces populations. Ce déficit d'hétérozygotes peut s'expliquer par la présence d'allèles nuls, l'effet Walhund (qui entraîne un excès d'homozygotes), l'autogamie ou la consanguinité.

Une très faible variabilité génétique est mise en évidence entre les populations. Les distances génétiques entre les populations sont très faibles. L'analyse de variance moléculaire indique que la diversité génétique au sein des populations explique près de 95% de la diversité génétique totale et que la variation entre les régions et les populations est très faible, chacune environ 2,3% et 2.35%. Les analyses factorielles et l'arbre phylogénique, attestent ces effets de la structuration génétique des populations étudiées. Tous les individus étudiés sont différenciés avec seulement 9 locus microsatellites.

Toutes les analyses montrent en effet une très faible variabilité génétique entre les six provenances du Togo étudiées, que ce soit les F-statistiques qui sont tous en moyenne non significatives ou les analyses factorielles (AFC), ou encore l'analyse moléculaire de variance, les distances génétiques entre les populations, et l'arbre phylogénétique. Les provenances étudiées peuvent être considérées comme une seule et même entité du point de vue génétique. On pourrait penser que ces populations n'ont pas subi les effets de l'évolution (mutation, migration, et la sélection).

4. Variabilité génétique et variabilité technologique des tecks des plantations du Togo

Les travaux antérieurs sur le teck au Togo (Kokutse, 2002, 2004, et 2005) ont montré une grande variabilité intra et inter population en ce qui concerne les caractéristiques technologiques (densité, durabilité naturelle, la résistance...) et esthétiques du bois. Les tecks de la zone III (Avétonou1 et 2) seraient significativement les plus colorés, et ceux de la zone I (Natitikpi) seraient les plus durables. Tous les facteurs de variabilité étudiés au cours de cette étude antérieure (tableau2et 3), ne dépendent pas, selon notre étude, des facteurs génétiques. Ceci est vrai pour les variabilités inter populations puisque les effets de la diversité génétique entre les populations sont très faibles à raison de 2% seulement. Cependant la grande variabilité observée à l'intérieur des populations a certainement une corrélation avec les facteurs génétiques d'autant plus que les effets génétiques au niveau individuel représente 95% de tous les effets de la variabilité génétique. L'âge des populations étudiées et les

caractéristiques pédologiques et climatiques étant différents, et que les populations soient génétiquement très proches, les variations observées sur le bois doivent donc probablement provenir uniquement des facteurs environnementaux.

VII- PERSPECTIVES

La caractérisation des six provenances de teck du Togo avec les marqueurs moléculaires neutres, ouvre divers axes de recherche sur le teck et sa gestion au Togo. Nos résultats permettent de faire l'hypothèse que les tecks introduits au Togo proviendraient du nord de l'Inde. Les populations proviendraient probablement d'une seule origine de la partie Nord de l'Inde, mais les graines ont probablement été récoltées sur un grand nombre d'arbres car la diversité génétique individuelle est très forte. Si l'on veut améliorer la qualité du bois de teck au Togo, l'Office de Développement et d'Exploitation des forêts (ODEF) qui gère les teckeraies, doit contrôler la qualité d'origine des semences. Une sélection des meilleures provenances couplant les informations technologiques, sylviculture, et génétique permettra d'optimiser les gains de croissance et de qualité du bois. Une diversification de la variabilité génétique du teck du Togo, paraît cependant nécessaire pour garantir la production de semences améliorées, sur le long terme.

Des études sur les QTL (Quantitative Trait Loci) pourront par ailleurs être envisagées. Il s'agit d'étudier les marqueurs moléculaires en relation avec les caractères d'importance économique du bois (couleur, densité, la durabilité...). Elle permettra de déterminer des arbres- plus (qui ont des caractéristiques supérieures) au sein des peuplements existants ; ils serviront de porte-graines.

Les effets des facteurs écologiques, pédologiques et l'effet de l'âge sur qualité du bois doivent être envisagés dans les recherches futures sur l'espèce, au Togo.

VIII- CONCLUSION

Le teck est introduit au Togo depuis une centaine d'années et ses plantations s'accroissent sans cesse alors que peu d'études ont été menées sur cette espèce devenue la première ressource de bois exportée. Son origine naturelle est aussi mal connue. Aussi une étude antérieure récente a-t-elle montré que le bois de teck issu des plantations du Togo présente une grande variabilité technologique et esthétique. Cette variabilité influence certainement la qualité du bois et son rendement économique. Notre étude a été réalisée dans l'objectif général de contribuer à l'amélioration de la qualité du bois.

Neuf amorces microsatellites ont été utilisées pour l'analyse de la diversité génétique de six populations de 112 individus au total. La diversité allélique des populations a été déterminée ; elle montre une richesse allélique relative dans les populations d'Avétonou (1 et 2). Le taux d'hétérozygotie observé est supérieur à celui attendu sous l'équilibre de Hardy-Weinberg dans chaque population. Les distances génétiques calculées entre les populations sont très faibles pour toutes les deux méthodes utilisées (Néi, 1978 ; Cavalli Sforza, 1986). Des analyses factorielles des composantes (AFC) sont faites, l'une en trois dimensions, et l'autre prenant en compte le centre de gravité des populations. L'analyse des variances moléculaires (AMOVA) est aussi faite sur les six populations. Toutes ces analyses ainsi que le dendrogramme construit montrent une très faible différenciation génétique des six populations étudiées. L'AMOVA donne 95,34% de variation entre les individus et 2,3%, de variation entre les populations de différentes zones et 2,35% entre les populations d'une même région.

L'origine probable des tecks en plantation au Togo est déterminée ; ils proviendraient du nord de l'Inde.

Le taux moyen d'erreur de génotypage pour cette étude est faible. On l'a estimé à 0,05% par allèle et 0,26% par locus. Ceci nous permet de valoriser nos résultats.

Somme toute, la diversification génétique du teck du Togo est faible, les agents impliqués dans les plantations et la gestion des teckeraies au Togo, devront diversifier les semences.

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

- Behagel , I. 1997.** « Le teck *Tectona grandis* » in *Le flamboyant*, n°44, décembre 1997
- Behagel , I. 1999.** Etat des plantations de teck(*Tectona grandis* L. f.) dans le monde. *Bois et Forêt des tropiques*.269, 5-18
- Belouard, P. 1957.** Le teck en Afrique occidentale française. Centre technique forestier tropical(CTFT), Abidjan.
- Bhat, K.M. 2000.** Timber quality of teak from managed tropical plantations with special reference to Indian plantations. in *Bois et forêts des tropiques* (Troisième partie: "Le bois de teck"), 263(1) : 6 -15.
- Bonin, A., Bellemain, E., Bronken Eidesen, P., Pompanon, F., Brochmann, C., and Taberlet, P. 2004.** How to track and assess genotyping errors in population genetics studies. *Molecular Ecology*, 13 : 3261 – 3273.
- Cavalli-Sforza, L.L. and Edwards, A.W.F. 1967.** Phylogenetic analysis: models and estimation procedures. *Evolution* 32: 550-570.
- Chaix, G. 2002.** Etude des flux de gènes dans un verger à graines d'*Eucalyptus grandis* à Madagascar. Thèse doctorale. Université de Montpellier II, 128p.
- CTFT(Centre Technique Forestier Tropical), 1990 .** « Fiche technique : teck » in *Bois et forêts des tropiques*, vol.224, pp.39-47 .
- Demenois, J. et Heurtaux, A. 2001.** La filière teck en Inde du Sud (Karnataka, Kérala, Tamil Nadu). De la plantation à la commercialisation du teck : aspects sociaux, économiques et techniques. Mémoire de fin d'études, ENGREF/ CIRAD - Forêt/Institut Français de Pondichéry.117p.
- Ern, H. (1979) -** Die Vegetation Togos. *Gliederrung, Gefährdung. Willdenowia*, 9 : 295-312.
- FAO, 2001.** *Situation des forêts du Monde*. 181pp.
- Fraisse E., 2005.** Caractérisation moléculaire des populations d'origine d'*Eucalyptus grandis* à l'aide de marqueurs S5A 22p. Rapport de stage.
- Haluk, J.P., Roussel, C., Thévenon, M., 2001.** Importance des quinones dans les propriétés antifongiques du teck(*Tectona grandis*). *Les cahiers scientifiques du bois*. 2, 77-83
- Herault D., 2004.** Evolution de la diversité génétique des variétés locales de Sorgho au Niger entre 1976 et 2003 ; structuration génétique des sorghos en 2003. Rapport de stage, INIMES / CIRAD .
- Hoffman, J.I., Amos, W. 2005.** Microsatellite genotyping errors: detection approaches, common sources and consequences for paternal exclusion. *Mol. Ecol.*14, 599-612.

- Horne, J.E.M. 1996.** Teack in Nigéria. Nigéria Information Bulletin (New series) No.16.
- Kadambi, 1972.** Silviculture and management of teak. Bulletin No.24. School of forestry, Stephen F. Austin State University, Nacogdoches, Texas, Etats-Unis.
- Keogh , R.M.1979.** Le teck, essence forestière idéale pour l'Amérique tropicale. *Unasylya*, 31(126) : 13-19.
- Kokutse A.D., 2002.** Analyse de la qualité du bois de teck (*Tectona grandis* L.f) en plantation au Togo : formation de bois de cœur, propriétés mécaniques et durabilité. Thèse de doctorat de l'Université de Bordeaux I. 133 p.+ annexes.
- Kokutse, A. D., Baillère, Stokes A., Kokou K., 2004.** Mechanical properties and proportion of heartwood in teak (*Tectona grandis*) from different ecological zone in Togo. *Forest Ecology and Management*, 189: 37-48.
- Kokutse, A.D., Stokes A., Baillères H., Baudassé C., Kokou K., 2005.** Decay resistance of Togolese teak (*Tectona grandis* L.f) heartwood and relationship with colour. *Trees* (In press)
- Madan K. S., Volkaert, H.and Van Der Straeten, D. 2005.** Assessment of genetic diversity in *Tectona grandis* using amplified fragment lenght polymorphism markers. *Can. J. For. Res.* 35 : 1017 – 1022.
- Maldonado, G. 1999.** Le teck en Côte d'Ivoire. Mémoire de fin d'étude, CNEARC – ESAT.
- Nei, M (1987).** Molecular Evolutionary Genetics. *Columbia University Press*, New York; 149-26. OIBT, 2004. *Actualités des forêts tropicales*, Vol 12, N°1.
- Pahup, S., Sunita, J. and Sangeeta, B. 1989.** A 1, 4-Anthraquinone derivate from *Tectona grandis*. *Phytochemistry*. 28 : 1258 – 1259.
- Pandey, D. et Brown, C. 2000.** Le teck dans le monde. *Unasylya*, 201 : 3 – 13.
- Pompanon, F., Bonin, A., Bellemain, E. and Taberlet. P. 2005.** Genotyping errors : causes, consequences and solutions. *Nature reviews/ Genetics*, 6: 847- 859.
- Sandermann, W., Simantupang, H., 1966.** Zur chemie und biochemie des Teakholzes (*Tectona grandis* L.f.). *Holz als Roh-und Werkstoff*. 24:190-204.
- Sire, P. 2003.** Structuration génétique de populations naturelles d'une espèce forestière océanienne / *Santalum austrocaledonicum* en Nouvelle Calédonie. Mémoire de stage ENFA/CIRAD/ Université Paul Sabatier, Toulouse III, 28p.
- Soeprijo Kertadikara A.W. 1992.** Variabilité génétique de quelques provenances de teck (*T. grandis* L.F.) et leur aptitude à la multiplication végétative. Thèse de doctorat, spécialisation Biologie végétale et forestière, Université Nancy I, 1 – 35.
- Souvannavong, O. 1986.** Les teckeraies togolaises . Aménagement des parcelles à objectif bois d'œuvre. Rapport ODEF, Togo. 296pp.

Tajuddin, E., Anoop, E.V. and Jacob, S. 1996. Teak, Kerala Agricultural University, 60p.

Verhaegen, D., Ofori, D., Fofana I., Poitel, M., and Vaillant, A. 2005. Development and characterization of microsatellite markers in *Tectona grandis* (Linn. f). *Molecular Ecology Notes* doi: 10.1111/j.1471-8286.2005.01124.

Vernay, M. 2000. Le teck en France pour quoi faire? in *Bois et forêts des tropiques* (Troisième partie : “Le bois de teck”), 263(1) : 31 – 37.

Yamamoto, K., Simtupanng, H., M., Hashim, R., 1998. Caoutchouc in teack wood (*Tectona grandis* L.f.) :formation, location, influence on sunlight irradiation, hydrophobicity and decay resistance. *Holz as Roh-und werkstoff*.56, 201-209.

ANNEXES

ANNEXE 1

Composition du tampon d'extraction d'ADN et leur rôle

Il est préparé à partir de :

EDTA Na₂, H₂O 0.5M(acide éthylène diamine tétraacétique dissodique) : le sel disodique est utilisé pour inhiber la dégradation de l'ADN en chélatait les ions Mg⁺⁺ cofacteurs des Dnases.

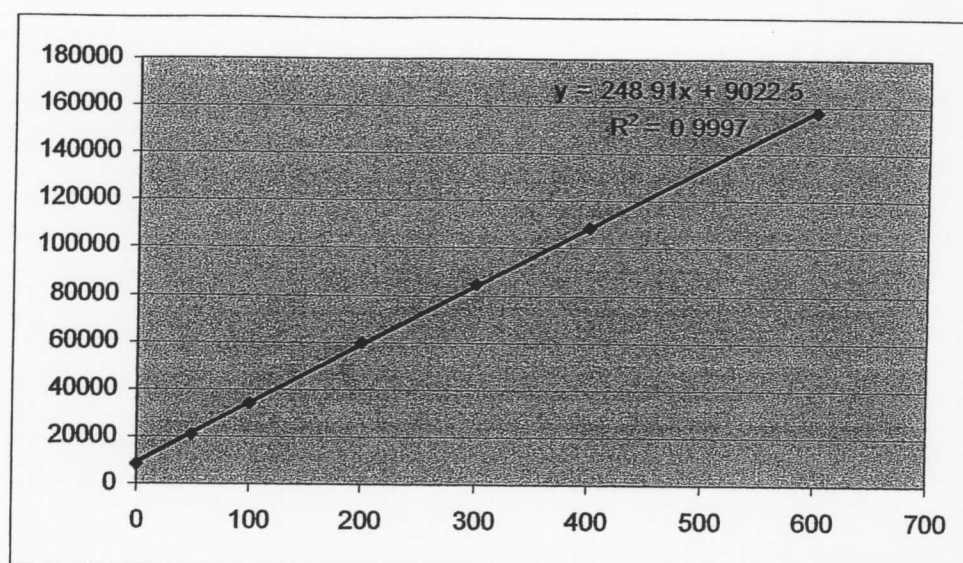
ATMAB : (bromure d'alkyltriméthyl ammonium) : complexe les polysaccharides et les protéines libérées lors du broyage.

NaCl 5M : sa forte concentration limite les dénaturations partielles

PVP 1% (polyvinyl pyrrolidone ou polydone 25) : soluble, complexe les polyphénols. On l'ajoute au tampon chauffé au moment de l'extraction

Bêta mercapto éthanol, (toxique) est un antioxydant qui protège l'ADN de la dégradation. Il est ajouté sous hotte aspirante au tampon au moment de l'extraction .

ANNEXE 2 : Coube d'étalonnage et concentration d'ADN dosée



Courbe étalon résultant du dosage d'ADN

t1	Loko	117.9	t89	Avétonou II	179.2
t2	Loko	139.7	t90	Avétonou II	167.7
t3	Loko	237.6	t91	Avétonou II	197.7
t4	Loko	102.1	t92	Avétonou II	
t5	Loko	164.5	t93	Avétonou II	233.8
t6	Loko	81.4	t94	Avétonou II	364.6
t7	Loko	167.1	t95	Avétonou II	249.5
t8	Loko	176.5	t96	Avétonou II	180
t9	Loko	224.9	t97	Avétonou II	209
t10	Loko	27.9	t98	Avétonou II	153.6
t11	Loko	86.5	t99	Avétonou II	167.1
t12	Loko	82.7	t100	Avétonou II	234.5
t13	Loko	128	t101	Avétonou II	120.2
t14	Loko	159	t102	Avétonou II	151.3
t15	Loko	138.2	t103	Avétonou II	135.8
t16	Loko	160.6	t104	Avétonou II	121.7
t17	Loko	116.1	t105	Avétonou II	130.5
t18	Loko	169.4	t106	Avétonou II	142.2
t19	Loko	65.9	t107	Avétonou II	126.8
t20	Loko	170.3	t108	Avétonou II	148.5
t21	Loko	75.6	t109	Avétonou II	272.4
t22	Loko	41.7	t110	Avétonou II	228.7
t23	Loko	36.6	t111	Avétonou II	162.1
t24	Loko	98.6	t112		228.1
t25	Loko	62.7	t113	Avétonou II	145.3
t26	Loko	62	t114	Avétonou II	130.1
t27	Loko	97	t115	Avétonou II	134.9
t28	Natitikpi	196.4	t116	Avétonou II	134.2
t29	Natitikpi	110.8	t117	Avétonou II	155.9
t30	Natitikpi	150.4	t118	Avétonou II	149.7

t31	Natitikpi	198.8	t119	Avétonou II	191.9
t32	Natitikpi	246.3	t120	Lilicopé	222.9
t33	Natitikpi	226.9	t121	Lilicopé	186.1
t34	Natitikpi	171.6	t122	Lilicopé	199
t35	Natitikpi	185.5	t123	Lilicopé	199.5
t36	Natitikpi	190.5	t124	Lilicopé	219.1
t37	Natitikpi	172.8	t125	Lilicopé	175.6
t38	Natitikpi	221.2	t126	Lilicopé	156.2
t39	Natitikpi	284.5	t127	Lilicopé	166.3
t40	Natitikpi	195.8	t128	Lilicopé	
t41	Natitikpi	207.3	t129	Lilicopé	116.3
t42	Natitikpi	225.1	t130	Lilicopé	148.2
t43	Natitikpi	240.2	t131	Lilicopé	153.8
t44	Natitikpi	152.9	t132	Lilicopé	172.7
t45	Natitikpi	183.3	t133	Lilicopé	159.5
t46	Natitikpi	145.3	t134	Lilicopé	185
t47	Natitikpi	117.2	t135	Lilicopé	123
t48	Natitikpi	241.5	t136	Lilicopé	142.1
t49	Natitikpi	180.6	t137	Lilicopé	174.9
t50	Natitikpi	164.7	t138	Lilicopé	294.5
t51	Natitikpi	63	t139	Lilicopé	75.4
t53	Natitikpi	202.7	t141	Lilicopé	126.6
t54	Natitikpi	118.7	t142	Lilicopé	18.1
t55	Natitikpi	216.6	t143	Lilicopé	32.2
t56	Natitikpi	146.8	t144	Lilicopé	84.2
t57	Natitikpi	226.6	t145	Lilicopé	78.3
t58	Avétonou 1	167.8	t146	Lilicopé	79.3
t59	Avétonou 1	181.2	t147	Etô	159.5
t60	Avétonou 1	187	t148	Etô	96
t61	Avétonou 1	77.5	t149	Etô	108.9
t62	Avétonou 1	320.6	t150	Etô	115.9
t63	Avétonou 1	146.5	t151	Etô	108.4
t64	Avétonou 1	314.9	t152	Etô	119.6
t65	Avétonou 1	220.2	t153	Etô	174.6
t66	Avétonou 1	228.3	t154	Etô	69.2
t67	Avétonou 1	268.1	t155	Etô	179.6
t68	Avétonou 1	211.4	t156	Etô	137
t69	Avétonou 1	299.2	t157	Etô	160.9
t70	Avétonou 1	174.2	t158	Etô	148.8
t71	Avétonou 1	181.4	t159	Etô	102.8
t72	Avétonou 1	349.1	t160	Etô	104.8
t73	Avétonou 1	269.4	t161	Etô	101.9
t74	Avétonou 1	153.3	t162	Etô	186.9
t75	Avétonou 1	276.8	t163	Etô	216.4
t76	Avétonou 1	101.2	t164	Etô	133.3
t77	Avétonou 1	98.5	t165	Etô	147.9
t78	Avétonou 1	130.9	t166	Etô	105.7
t79	Avétonou 1	268.1	t167	Etô	147.6
t80	Avétonou 1	85.7	t168	Etô	75.6
t81	Avétonou 1	183.9	t169	Etô	231.9

t82	Avétonou 1	192.1	t170	Etô	205.8
t83	Avétonou 1	254.7	t171	Etô	211.6
t84	Avétonou 1	401.1	t172	Etô	142.6
t85	Avétonou 1	247.2	t173	Etô	84
t86	Avétonou 1	143.7	t174	Etô	91.3
t87	Avétonou 1	98.5	t175	Etô	201.7
t88	Avétonou 1	336.1	t176	Etô	175.3
			t177	Etô	81.5

Résultats d'ADN

ANNEXE 3 :

PCR des échantillons du Togo

PREPARATION DU MELANGE REACTIONNEL

MIX	[stock]	[finale dans PCR]	Volume / échantillon	Volume pour 84 échantillons
H ₂ O			6.25 µl	525
Tampon PCR 10X avec MgCl ₂	↔ 10 X ↔ 20 mM	→ 1X → 2 mM	1.50 µl	126
dNTP	25000 µM	200 µM	0.12 µl	10.28
Amorce 1-M13	10 µM	0.06 µM	0.09 µl	7.56
Amorce 2	10 µM	0.10 µM	0.15 µl	12.6
M13 marqué	1 µM	0.10 µM	1.50 µl	126
Taq ADN polymérase Invitrogen	5U/µl	0.13/µlU	0.39µl	32.76
Volume MIX/échantillon			10 µl	10 µl
ADN 5 ng/µl		25 ng/µl	5.0 µl	5 µl
VOLUME TOTAL			15 µl	15 µl

CONDITIONS PCR

Dénaturation initiale	4 mn	94°C	1 cycle
Dénaturation	30 sec.	94°C	X 30cycles
Hybridation	45 sec.	51°C	
Elongation	45 sec.	72°C	
Elongation finale	5 mn	72°C	1 cycle

Appareil :

STRATAGENE

Programme : 27

Couvercle chauffant : Non

Durée de la PCR : 1H13mn

IMPORTANT : Après l'amplification, la microplaque est enveloppée dans une feuille en aluminium et stockée à 4°C.

ANNEXE 4 : PCR des échantillons témoins

Préparation du mélange réactionnel

MIX	[stock]	[finale dans PCR]	Volume / échantillon	Volume pour 5 échantillons
H ₂ O			20. µl	104.15µl
Tampon PCR 10X avec MgCl ₂	↔10 X ↔20 mM	→ 1X → 2 mM	4.99 µl	24.95 µl
dNTP	2500 µM	200 µM	0.399µl	1.995 µl
Amorce 1-M13	10 µM	0.06 µM	0.29µl	1.45µl
Amorce 2	10 µM	0.10 µM	0.49µl	2.45 µl
M13 marqué	1 µM	0.10 µM	4.99µl	24.95 µl
Taq ADN polymérase Invitrogen	5U/µl	0.13/µIU	1.29µl	6.45 µl
Volume MIX/échantillon			33.3µl	166.35µl
ADN 5 ng/µl		83.35ng/µl	16.67 µl	83.35 µl
VOLUME TOTAL			50µl	249.7 µl

Les échantillons amplifiés pour les 9 locus étudiés

2TB7	06	12	52	4TD12	148	57	189
1TF5	86	G01	166	4TF2	60	179	G27
1TA6	129	40	61				
3TB2	G99	06	103				
1TB3	171	84	47				
3TF1	93	206	88				
2TC3	147	93	64				

G : échantillon du Ghana, les autres sont de la Côte d'Ivoire

Conditions PCR

Dénaturation initiale	4 mn	94°C	1 cycle
Dénaturation	30 sec.	94°C	X 30cycles
Hybridation	45 sec.	°C	
Elongation	45 sec.	72°C	
Elongation finale	5 mn	72°C	1 cycle

Appareil : STRATAGENE

Programme : 27

Couvercle chauffant : NON

Durée de la PCR : 1h13mn

Stockage des produits d'amplification à 4°C dans une enveloppe d'aluminium

ANNEXE 5 : Mélange utilisé pour le contrôle des erreurs de génotypage

Locus	Allèles attendus								
	Individu 1	Individu 2	Individu 3	Individu 1		Individu 2		Individu 3	
2TB7	i 006	i 012	i 052	129	131	129	131	145	157
1TF5	i 086	g 001	i 166	249	269	259	259	269	279
1TA6	i 129	i 040	i 061	195	205	193	201	193	221
1TB3	i 171	i 084	i 047	236	248	244	246	242	266
3TF1	i 093	i 206	i 088	200	208	212	216	214	232
2TC3	i 147	i 093	i 064	279	269	285	287	295	295
3TB2	g 099	i 006	i 103			232	236	238	250
4TD12	i 148	i 057	i 189	129	145	139	145	161	167
4TF2	i 060	i 179	g 027	217	227	225	231	229	243

i = échantillons de la Côte d'Ivoire

g : échantillons du Ghana

			Gel 1																Gel 2															
Référence du génotype	LOCUS	ALLELES	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	25	23	24	25	26	27	28	29	30	31
1	4TD12	129	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
1		139	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
1		145	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
1		161	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1		167	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1	3TB2	217	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1		232	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
1		236	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
1		238	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1		248	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1	2TB7	250	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1		129	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1		131	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1		145	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1		157	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1	1TB3	236	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	
1		242	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	
1		244	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	
1		246	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	
1		248	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	
1	4TF2	266	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	
1		217	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
1		225	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
1		227	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1		229	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1	1TA6	231	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1		243	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
1		193	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1		195	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1		201	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1	1TF5	205	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1		221	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1		249	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1		259	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1		269	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1	3TF1	279	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1		200	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1		208	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1		212	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1		214	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1	2TC3	216	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1		232	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1		269	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1		279	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1		285	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1	2TC3	287	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1		295	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
1		305	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

ANNEXE 6 : Représentation du génotype pour le calcul d'erreur

RESUME

Le teck constitue une ressource d'avenir pour le Togo où, il est très utilisé et constitue la première essence de bois exporté. Six provenances de teck issues des plantations du Togo réparties dans des régions écologiques très différentes ont été caractérisées avec des marqueurs moléculaires microsatellites (Simple Sequence Repeat) en vue de connaître leur diversité génétique et pouvoir mieux les intégrer dans un programme de gestion durable approprié. L'étude de 9 locus microsatellites révèle que la presque totalité des effets de variation génétique est notée à l'intérieur des populations. L'analyse de variance moléculaire (AMOVA) montre en effet 95,34% de variation entre les individus, et seulement 2,3% entre les populations de différentes zones et 2,35% entre les populations d'une même zone. Les distances génétiques calculées montrent aussi une très faible différenciation entre les populations. La variabilité technologique et esthétique du bois de teck issu des plantations du Togo observé lors d'une étude antérieure (Kokutse, 2002), ne se retrouve pas au niveau des marqueurs moléculaires neutres. Les tecks du Togo peuvent être considérés comme une seule population dont l'origine naturelle est probablement le Nord de l'Inde. Une des perspectives qui s'imposent est la diversification des semences pour une gestion profitable et durable des teckeraies du Togo.

Mots clés : teck ; caractérisation ; microsatellites (SSR) ; diversité génétique.

ABSTRACT

Teak constitutes a resource with a future for Togo where, it is very much used and constitutes the first hardwood exported. Six teak provenances resulting from plantations of Togo distributed in very different ecological areas were characterized with molecular microsatellites (Simple Sequence Repeat). The objective was to know their genetic diversity and better be able to integrate them in a sustainable program. The study of nine (SSR locus) reveals that almost the total effect of genetic variation is noted inside the populations. The analysis of the molecular variance (AMOVA) indeed shows 95.34% of variation at the individual level, and only 2.3% between the populations of different regions, and only 2.35% between the populations of various regions. The genetic distances estimated show also a very weak differentiation between the populations. The technological and aesthetic variability of teak wood of Togo observed in a previous study (Kokutse, 2002), was not found on the level of the neutral molecular markers. Teak of Togo can be regarded as only one population whose natural origin is probably the North of India. One of essential prospects is the diversification of the seeds for an advantageous and durable management of teak plantations of Togo.

Key words: teak; characterization; microsatellites (SSR); genetic diversity; Togo.